



FACULDADE DE VETERINARIA

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología

PRESENCIA DE ELEMENTOS TÓXICOS Y MICOTOXINAS EN CEREALES DE KAZAJISTÁN

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

DAMIRA TATTIBAYEVA

Bajo la dirección de los Doctores:

Carlos Franco Abuín

Carolina Nebot García

Lugo, Febrero 2017



Dr. Carlos Franco Abuín, profesor titular de la Universidad de Santiago de Compostela y Carolina Nebot García, miembro del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela,

Autorizan a:

Damira Tattibayeva a la presentación del trabajo titulado “**Presencia de elementos tóxicos y micotoxinas en cereales de Kazajistán**” realizado bajo su dirección en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela.

Y, para que así conste, firma la presente en Lugo, Febrero 2017

Fdo. D. Carlos Franco Abuín

Carolina Nebot García

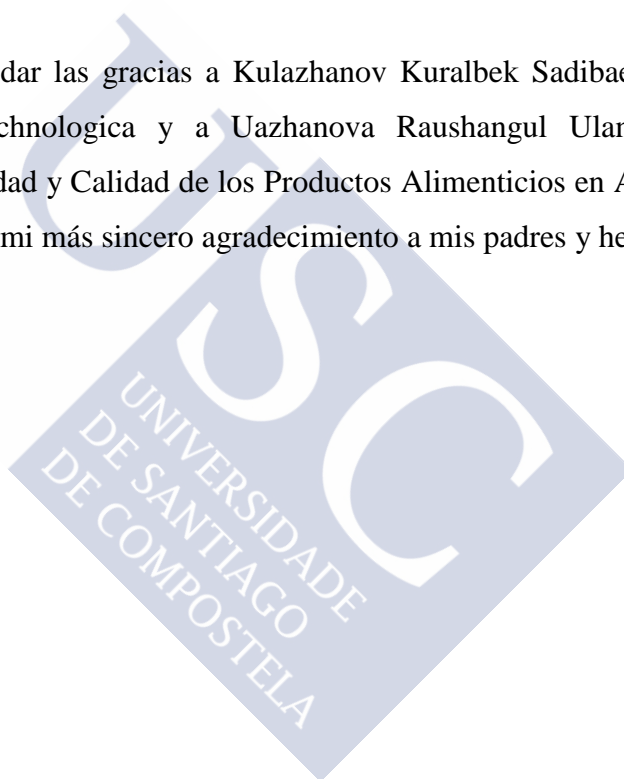
Fdo. D. Damira Tattibayeva



AGRADECIMIENTOS

Me gustaría dar las gracias por darme la oportunidad de realizar mi tesis doctoral a Alberto Cepeda Sáez, catedrático de la Universidad de Santiago de Compostela y director del Laboratorio de Higiene, Inspección y Control de Alimentos (LHICA), a mis directores de tesis Dr. Carlos Franco Abuín y Dr. Carolina Nebot García, a los miembros del laboratorio LHICA, a los miembros de la Unidad de Análisis Instrumental del Cactus de Lugo y al programa Internacional Erasmus Mundus.

Tambien quiero dar las gracias a Kulazhanov Kuralbek Sadibaevich presidente de Almaty Universidad Technologica y a Uazhanova Raushangul Ulangazievna jefe del Departamento de "Seguridad y Calidad de los Productos Alimenticios en Almaty Universidad Technologica. Por último mi más sincero agradecimiento a mis padres y hermanos





ABREVIATURAS

As	Arsennico
ASB	arsenobetaína ASB
Ca	Calcio
Cd	Cadmio
CEI	Comunidad de Estados Independientes
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DMA	dimetilarsinato
ECD	Detector de captura electrónica
EE.UU.	Estados Unidos
EFSA	Agencia Europa de Seguridad Alimentaria
ELISA	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay”
EU	Unión Europea
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FAOSTAT	Departamento de Estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
Fe	Hierro
FID	Dector de ionización de llama
FLD	Detector de fluorescencia
GC	Cromatografía de gases
Ge	Germanio
Hg	Mercurio
HI	índice de peligros
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución del inglés “ high-performance liquid chromatography”
HQ	riesgo potencial no cancerígeno
IARC	Del inglés International Agency for Research on Cancer
ICP-MS	spectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente
IMS	Ingesta Media Semanal
ISE	Ingestas Semanales Estimadas
K	Potasio
LDD	Límite de detección
LDQ	Límite de cuantificación

LM	Limite máximo
MAGRAMA	El Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España
MAPAMA	Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente
Mg	Magnesio
MMA	monomethilarsonate
Mn	Manganeso
MR	Materiales de referencia
MS	Espectrometría de masas
mt	Miles de toneladas
Mt	Millones de toneladas
Na	Sodio
Ni	Niquel
OECD	Del inglés “Organization for Economic Co-Operation and Development”
Pb	Plomo
PDI	Ingesta diaria probable
QuEchERS	Del inglés “quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe”
Se	Selenio
Sr	Estroncio
Tb	Terbio
TDI	Ingesta diaria tolerable
TLC	Cromatografía de capa fina
U	Uranio
UV	Detector de ultravioleta
V	Vanadio
WHO	Organización Mundial de la Salud del inglés “World Health Organization”
Zn	Zinc

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	5
ABREVIATURAS	7
TABLA DE CONTENIDOS	9
INDICE DE FIGURAS	13
INDICE DE TABLAS	15
RESUMEN	17
SUMMARY	19
RESUMO.....	21
Capítulo 1: Introducción.....	23
1. 1. KAZAJISTÁN	25
1.2. EL ARROZ	28
1.2.1. Generalidades, variedades y valor nutritivo	28
1.2.2. Distribución y Consumo del Arroz	36
1.3 EL TRIGO	41
1.3.1. Generalidades, variedades y valor nutritivo	41
1.3.2. Distribución y Consumo del Arroz	44
1.4 TALKAN: PRODUCTO TRADICIONAL KAZAJO A BASE DE CEREALES	47
1.5. ELEMENTOS Y SUSTANCIAS TÓXICAS	49
1.5.1 Elementos Tóxicos	49
1.5.2. Elementos esenciales.....	59
1.6 LAS MICOTOXINAS	66
1.6.1. Generalidades de la micotoxinas.....	66
1.6.2 Alimentos en las que suelen detectarse las micotoxinas	71
1.6.3. Métodos comúnmente empleados para el análisis de micotoxinas	72
1.7. Bibliografía	74
Capítulo 2: Objetivos	93
Capítulo 3: Investigación de la contaminación en arroz en Kazajistán y la EU.....	97
3.1 Introducción	99
3.2 Material y Métodos	101
3.2.1 Muestreo.....	101

3.2.2. Tratamiento de las muestras	102
3.2.3. Determinación de las especies de As	106
3.2.4. Aseguramiento y control de calidad de los ensayos.....	107
3.2.5. Ingesta semanal estimada	107
3.2.6. Análisis estadístico	108
3.3. Resultados y Discusión	108
3.3.1. As total y especiación del As en el arroz	108
3.3.2. Concentraciones de Cd, Hg y Pb.....	112
3.3.3. Elementos esenciales (Co, Cu, Mn, Fe y Zn) en muestras de arroz.....	114
3.3.4. Concentraciones de Cr, Sr, V y U en muestras de arroz	117
3.3.5. Clasificación de las muestras mediante el empleo del análisis discriminante	119
3.3.6. Estimación de la ingesta media semanal de metales a partir del arroz de Kazajistán, de España y Portugal	120
3.4. Conclusiones	123
3.5. Referencias.....	124
Capítulo 4: Estudio sobre los elementos tóxicos y esenciales en el grano de trigo de Kazajistán.....	131
4.1. Introducción	133
4.2. Materiales y métodos	135
4.2.1. Áreas de muestreo	135
4.2.2. Preparación de la muestra	136
4.2.3. Control de calidad	138
4.2.4. Riesgo para la salud derivados del consumo de trigo Kazajo	138
4.2.5. Análisis estadístico.....	140
4.3. Resultados y discusión.....	140
4.3.1. Concentración de elementos tóxicos (As, Cd, Cr, Hg, Pb y U)	140
4.3.2. Concentración de elementos esenciales (Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se y Zn)	145
4.3.3. Efecto del lavado del grano de trigo en las concentraciones de los elementos	148
4.3.4. Clasificación de la muestra mediante análisis discriminatorio	149
4.3.5. Ingesta diaria de elementos tóxicos y esenciales por parte de la población kazaja.	150
4.4. Conclusiones	157

4.5. Referencias.....	157
Capítulo 5: Presencia de micotoxinas en Talkan un alimento a base de cereales tradicional para la población turca.....	163
5.1 Introducción	165
5.2 Material y métodos	169
5.2.1 Productos químicos, reactivos y soluciones madre	169
5.2.2 Muestra de orígenes	169
5.2.3 Análisis de micotoxinas por kits ELISA	171
5.2.4 Análisis de micotoxinas por HPLC-MS/MS	173
5.3 Resultados y discusión.....	173
5.3.1 Aflatoxinas	174
5.3.2 Fumonisinias	175
5.3.3 Zearalenona	176
5.3.4 Deoxinivalenol	178
5.3.5 Ocratoxina A	180
5.3.6 Riesgo para la salud derivados del consumo de Talkan contaminado	180
5.4. Conclusiones	182
5.5. Referencias.....	182
Capítulo 6: Conclusiones	189
ANEXO.....	193



INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Localización geográfica de Kazajistán.....	25
Figura 1.2. Provincias y recursos naturales de Kazajistán	26
Figura 1.3. Estructura del grano de arroz	28
Figura 1.4. Mayores países productores de arroz (mt).	37
Figura 1.5. Contribucion de paises productores de arroz en la UE	38
Figura 1.6. Distribución de la producción de arroz por CCAA (mt)(Cosecha 2012))	38
Figura 1.7. Porcentaje de consumo de arroz en países consumidores de arroz.....	40
Figura 1.8. Estructura de un grano de trigo.	42
Figura 1.9. Principales países productores de trigo del mundo	44
Figura 1.10. Principales países productores de trigo de Europa (Mt)	45
Figura 1.11. Producción de trigo blando en España por CCAA (2013/2014) (mt).....	45
Figura 1.12. Consumo de arroz en diferentes países (t)	46
Figura 1.13. Imágenes de Talkan (harina y producto elaborado)	48
Figura 1.14. Fórmula estructural de la Aflatoxina.....	67
Figura 1.15. Fórmula estructural de la Fumonisina.....	68
Figura 1.16. Fórmula estructural de desoxinivalenol	69
Figura 1.17. Fórmula estructural de Zearalenona.....	69
Figura 1.18. Fórmula estructural de Ocratoxina.....	70
Figura 3.1. Localizaciones de las zonas de muestras en la provincia de Kyzylorda.	101

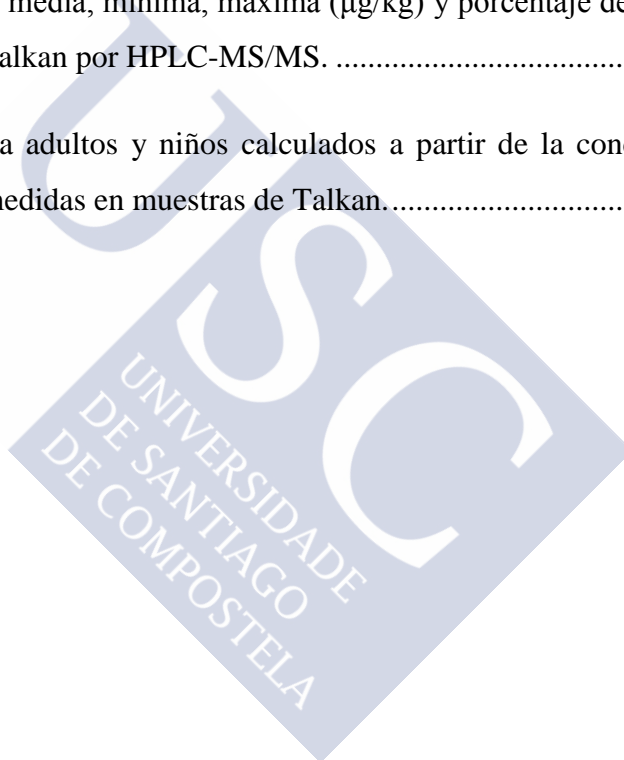
Figura 3.2. Gráfico de la función discriminante.....	120
Figura 4.1. Áreas de muestreo, áreas mineras y actividades industriales.....	134
Figura 4.2. Análisis discriminante de las muestras de Trigo.....	150
Figura 5.1. Áreas de muestreo, áreas mineras y actividades industriales.....	170



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. 1. Comparación de las características de los cultivares de arroz.....	29
Tabla 1.2. Composición del grano de arroz y sus fracciones (%)	34
Tabla 1.3. Principales vitaminas y minerales del arroz	34
Tabla 1.4. Macronutrientes del Trigo	43
Tabla 1.5. Vitaminas y Minerales del Trigo (mg/Kg)	43
Tabla 1. 6. Concentraciones de cadmio (mg/kg en peso seco) en partes comestibles de los cultivos de alimentos	52
Tabla 1. 7. Las concentraciones de plomo (mg/kg) en cultivos de trigo	53
Tabla 1.8. Micotoxinas más comunes según zona geográfica.....	71
Tabla 1.9. Principales especies micotoxigénicas, alimentos afectados y micotoxinas que producen.	72
Tabla 3. 1. Parámetros de control de Calidad del método Analítico	104
Tabla 3.2. Especies de As en muestras de arroz kazajo, español y portugués	109
Tabla 3.3. Concentraciones de As, Cd, Hg y Pb en muestras de arroz de Kazajistán, España y Portugal (mg/kg).....	113
Tabla 3. 4. Concentraciones de otros metales pesados y elementos esenciales en el muestras de arroz de Kazajistán, España y Portugal (mg/kg).....	116
Tabla 3.5. Promedio estimado de la ingesta semanal de metales pesados y elementos esenciales al comer arroz Kazajo, Español y Portugués (70 kg de peso corporal para adultos y 24 kg de peso corporal para niños)	122

Tabla 4. 1 LDD, LDQ, veracidad, repetibilidad y reproducibilidad del método.....	138
Tabla 4. 2. Valores de los cocientes de riesgo (HQ) y del índice de riesgo (HI) calculados para el trigo sin lavar	153
Tabla 4.3.Valores de los cocientes de riesgo (HQ) y del índice de riesgo (HI) calculados para el trigo lavado	155
Tabla 5. 1. Límites Máximos de micotoxinas permitidos en cereales y alimentos a base de cereales	168
Tabla 5. 2. Concentración media, mínima, máxima ($\mu\text{g/kg}$) y porcentaje de muestras positivas medidas en muestras de Talkan por HPLC-MS/MS.	174
Tabla 5.3.TDI y PDI para adultos y niños calculados a partir de la concentración media y máxima de micotoxinas medidas en muestras de Talkan.....	181



RESUMEN

Kazajistán empieza a ser en un gran productor de cereales, en particular de trigo y de arroz. Sin embargo, hay que resaltar que dichos cultivos coexisten con una gran cantidad de minas, industrias, centrales nucleares y pozos petrolíferos repartidos por todo el territorio lo que suponen fuentes potenciales de contaminación por sustancias tóxicas y un problema de seguridad alimentaria. Por tanto, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar la presencia de elementos y micotoxinas en cereales y alimentos a base de cereales habitualmente consumidos en Kazajistán. Para ello se han analizado elementos tóxicos (Cd, Hg, U, Sr, Cr, As,) (Cr) y Oligoelementos (Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se y Zn) en muestras de trigo (n=75) y de arroz (n=45) y la presencia de micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxina, zearalenona y deoxinilvalenol) en Talkan (n=50), un alimento tradicional basado en cereales tostados.

Los resultados obtenidos indicaron que los cereales analizados contenían niveles detectables de elementos tóxicos en la mayoría de las muestras pero a concentraciones por debajo de los límites establecidos por la legislación europea y kazaja. Sin embargo, las concentraciones de arsénico inorgánico sí superaban los límites establecidos por la FAO/WHO tanto para el arroz como para el trigo. En cuanto a las micotoxinas, más del 28% de las muestras de Talkan fueron positivas a la presencia de micotoxinas y 12 de ellas tenían concentraciones superiores a los límites máximos permitidos por la legislación europea para ocratoxina A, zearalenona y desoxinivalenol. Sin embargo, hay que resaltar que estas micotoxinas se encontraban dentro de los límites establecidos por la legislación Rusa-Kazaja-Bielorrusa.



SUMMARY

Kazakhstan is becoming a major producer of cereals, particularly wheat and rice. However, it should be noted that such crops coexist with a large number of mines, industries, nuclear power stations and oil wells spread throughout the territory, which is a source of contamination by toxic substances and a problem of food safety. Therefore, the objective of this work has been to evaluate the presence of elements and mycotoxins in cereals and cereal-based foods consumed in Kazakhstan. (C, Hg, U, Sr, Cr, As) (Cr) and trace elements (Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se and Zn) in wheat samples (n = 75) and rice (n = 45) and the presence of mycotoxins (aflatoxins, fumonisins, ochratoxin, zearalenone and deoxynilvalenol) in Talkan (n = 50), a traditional food based on roasted cereals.

The results indicated that the cereals analyzed contained detectable levels of toxic elements in most samples but at concentrations below the limits established by European and Kazakh legislation. However, concentrations of inorganic arsenic exceeded the limits established by FAO / WHO for both rice and wheat. As for mycotoxins, more than 28% of the Talkan samples were positive for mycotoxins and 12 of them had concentrations above the maximum limits allowed by European legislation for ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol. However, it should be noted that these mycotoxins were within the limits established by the Russian-Kazakh-Belarusian legislation.



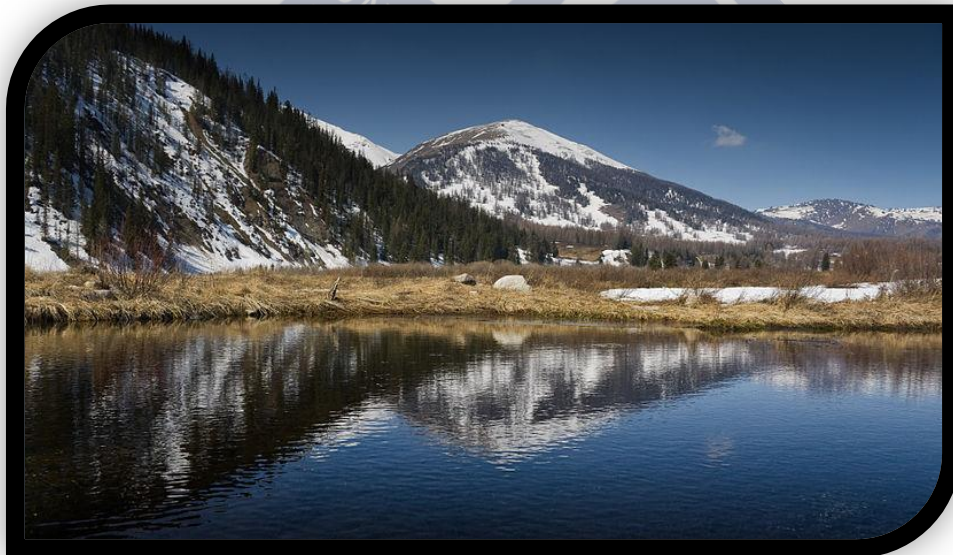
RESUMO

Kazajistán empieza a ser un gran produtor de cereais, en particular de trigo e de arroz. Con todo, hai que resaltar que devanditos cultivos coexisten cunha gran cantidade de minas, industrias, centrais nucleares e pozos petrolíferos repartidos por todo o territorio o que supón unha fonte potencial de contaminación por sustancias tóxicas e un problema de seguridade alimentaria. Polo tanto, o obxectivo deste traballo foi evaluar a presenza de elementos e micotoxinas en cereais e alimentos a base de cereais habitualmente consumidos en Kazajistán. Para iso analizáronse elementos tóxicos (Cd, Hg, Ou, Sr, Cr, As,) (Cr) e oligoelementos (Co, Cu, Fe, Mn, Nin, Se e Zn) en mostras de trigo (n=75) e arroz (n=45), así como a presenza de micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxina, zearalenona e deoxinilvalenol) en Talkan (n=50), un alimento tradicional baseado en cereais tostados.

Os resultados obtidos indicaron que os cereais analizados contiñan niveis detectables de elementos tóxicos na maioría de mostras, pero a concentracións por baixo dos límites establecidos pola lexislación europea e kazaja. Con todo, as concentracións de arsénico inorgánico si superaban os límites establecidos pola FAO/WHO tanto para o arroz como para o trigo. En canto ás micotoxinas, máis do 28% das mostras de Talkan foron positivas á presenza de micotoxinas e 12 delas tiñan concentracións superiores aos límites máximos permitidos pola lexislación europea para ocratoxina A, zearalenona e desoxinivalenol. Con todo, hai que resaltar que estas micotoxinas atopábanse dentro dos límites establecidos pola lexislación Rusa-Kazaja-Bielorrusa.



Capítulo 1: Introducción





1. 1. KAZAJISTÁN

Kazajistán emergió como estado independiente de la antigua Unión Soviética en 1991. Es el noveno país más grande del mundo, con una extensión de más 2,7 millones de kilómetros cuadrados que abarca desde las montañas de Tian Shan y Altain, en el este del país, hasta el mar Caspio, en el Oeste, atravesando grandes extensiones de estepa en la zona centro (Figura 1.1.). Limita al norte con Rusia, en el este con China y al sur con Kirguistán, Turkmenistán. La capital es Astana, pero tiene otras ciudades importantes tales como Almaty, Karaganda, Shymkent, Pavlodar, Taraz, Ustkamenogorsk que se encuentran repartidas en sus 14 provincias (Figura 1.2). La climatología de este vasto país es continental extremo ya que no está moderado por la presencia de océanos. En invierno la temperatura oscila entre -19 y -4°C y en verano entre 19 y 26 °C. Hay que resaltar que hay una gran diferencia entre el norte y el Sur, con veranos e inviernos más calurosos en la zona Sureste del país. Las precipitaciones son escasas, aproximadamente 150 mmm en la zona sur, por lo es necesario el riego para la producción de cultivos (Brummell, 2011).



Figura 1.1. Localización geográfica de Kazajistán



Figura 1.2. Provincias y recursos naturales de Kazajistán

El petróleo ha sido un factor económico importante en el desarrollo económico de Kazajistán, la producción alcanzada en 2010 fue de 80 millones de toneladas de petróleo. Kazajistán tiene una amplia gama de recursos naturales (Figura 1.2), ya que en su subsuelo hay grandes cantidades explotables de minerales como el cobre, plomo, cromita, fosforo, hierro, oro, berilio, manganeso, titanio, bauxita, etc. De hecho, se puede decir que posee casi la totalidad de la tabla periódica en su subsuelo. Por ello, las principales exportaciones no son solo de petróleo y gas sino también de minerales tales como el cobre, plomo, zinc, cromo, uranio y oro (Brummel, 2011).

La densidad de población de Kazajistán es muy baja, seis personas por kilómetro cuadrado ya que la población total es de 16 millones de habitantes. Si bien la mayor parte de Kazajistán se encuentra geográficamente en Asia, la parte pavlodar este del país, por encima del Caspio, situada al oeste de la línea de los montes Urales, se considera parte de Europa, dando fuerza a las afirmaciones de Kazajistán que representa ambos continentes (Brummel, 2011). La etnia eslava (de origen ruso) es la que forma la gran mayoría de la población de la región del norte de Kazajistán, mientras que alrededor del 96% de la población de la región de Kyzylorda, en el sur, es étnicamente kazajo. Aproximadamente el 63 % de la población corresponde a la etnia kazaja, el 24% a la etnia rusa y otros grupos minoritarios comprenden uzbekos (3%), ucranianos (2%), alemanes (2%) y poblaciones más pequeñas pero significativas de coreanos, chechenos, uigures, tártaros y griegos. El idioma kazajo es parte de la familia Kipchak de las lenguas turcas, sus parientes lingüísticos más cercanos dentro de esa familia incluyen Karakalpak y Nogay. Se estableció en 1989 como el idioma oficial de Kazajistán. El ruso se conserva un estatus formal como el "lenguaje de la comunicación interétnica" y en muchos sentidos sigue siendo la lengua franca en Kazajistán, ya que lo habla el 84% de la población Kazajistán.

1.2. EL ARROZ

1.2.1. Generalidades, variedades y valor nutritivo

1.2.1.1. Generalidades

La planta del arroz es una gramínea anual, de tallos redondos y huecos con hojas de lámina plana unidas al tallo por una vaina y una flor en forma de panícula. Se consume habitualmente en forma de grano entero y su morfología es la siguiente (Figura 1.3); tiene una cubierta exterior llamada la cáscara y una interior que es el fruto del arroz o cariósede (también llamado arroz cargo o descascarillado). La cáscara está compuesta por dos hojas (lema y palea) y posee vellosidades, sus células son lignificadas y quebradizas y suele representar aproximadamente el 20% del peso de grado de arroz, tiene la función de proteger la cariósede de hongos e insectos (Juliano y Bechtel, 1985). La cariósede está formada por varias capas el pericarpio, el tegumento, el núcleo, el endospermo y el embrión.

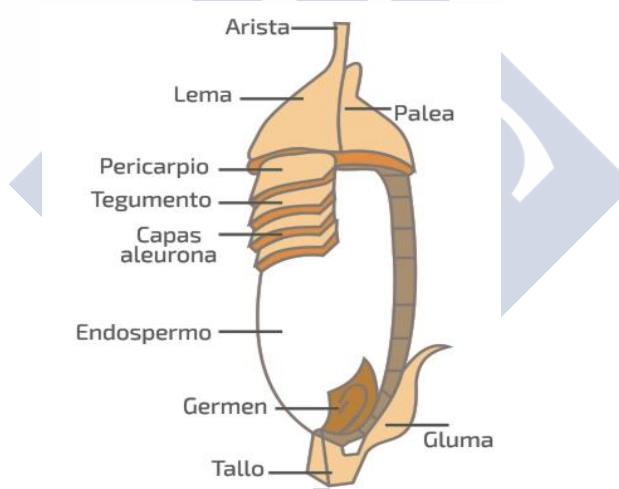


Figura 1.3. Estructura del grano de arroz

Fuente: (Urtasun, 2012)

Hoy en día se consideran que existen un total de 28 tipos de arroz, diferentes entre sí desde un punto de vista taxonómico (Zhailibay, 2006). Los arroces que se cultivan mayoritariamente son *Oryza sativa* y *Oryza glaberrima* (Zhailibay, 2006). La especie *Oryza sativa* se cultiva y consume desde hace más de 5000 años, en la actualidad, esta especie, se produce en más de 112 países distribuidos por todos los continentes del globo (Pincioli,

2010). Por otra parte, la especie *Oryza glaberrima* fue cultivada en el delta del río Níger hace 3500 años y a día de hoy se cultiva de forma amplia en África occidental (Semon y col. 2005). La especie *Oryza sativa* ha sufrido una evolución diferenciando a la variedad “japónica” y la “índica” y algunas veces se consideran también las variedades “javanica” y “brevis” aunque estos dos no están bien definidos y pueden derivarse de la “índica” (León, 1968). La variedad índica se cultiva fundamentalmente en los trópicos, y la variedad japónica en ambientes más fríos y secos con mayor altitud o latitud por lo cual deben presentar una mayor tolerancia a las bajas temperaturas. Morfológicamente, la variedad índica presenta hojas largas, tamaño de grano mediano y un alto contenido en amilosa mientras que la variedad japónica tiene menor número de macollas sus hojas son cortas y anchas y tiene un bajo contenido en amilosa y no le afecta el fotoperiodo (Becerra, 2015). La Tabla 1.1 compara las características de los cultivares de arroz de las dos subespecies japónica e índica publicados por Oka (2012) y Takahashi (1984).

Tabla 1. 1. Comparación de las características de los cultivares de arroz

Características	Tipo Japónica	Tipo Indica
Grano (longitud/anchura)	Corto	Estrecho
Numero de ahijados	Elevado	Elevado
Crecimiento de los ahijados	Erecto	Tendido
Altura de la planta	Baja	Alta
Resistencia a bajas temperaturas	Alta	Baja
Resistencia a la sequia	Baja	Alta
Resistencia al encamado	Alta	Baja
Respuesta al nitrógeno	Alta	Baja
Capacidad competitiva	Baja	Alta
Temperatura mínima para germinar	Baja	Alta
Longevidad de la semilla en almacén	Corta	Larga

Fuente: OKA (1988) y Takahashi (1984)

En particular, en los países de la antigua Comunidad de Estados Independientes (CEI) entre los que se encuentra Kazajistán, se cultivan otras variedades minoritarias, como son la variedad *itálica*, *zeravschhanica*, *vulgaris*, *erythroceros*, *dicroa*, *nigroapiculata* y *janthoceros*, todas ellas son variedades de la especie *Oryza sativa*, en particular de la variedad japónica (Zhailibay, 2006).

1.2.1.2. Terminología empleada para clasificar el arroz

Según la guía europea de mercancías del arroz, el arroz se puede clasificar según el tratamiento, el tamaño del grano y las variedades comerciales (Trade EU, 2012).

a) Clasificación según el tratamiento:

- **Arroz con cáscara (arroz paddy).** Es el arroz provisto de cáscara después de la trilla.
- **Arroz descascarillado (arroz cargo o arroz pardo).** Es el grano de arroz al que se le ha eliminado la cáscara. este es un arroz *sin* pulir que ha sido molido para separar la cáscara del núcleo pero conserva el salvado y el germen. Esta denominación comprende los nombres comerciales de arroz pardo, arroz cargo, arroz loonzain y riso sbramato. En este tipo de arroz se ha separado la cáscara por presión mecánica y está aún envuelto en el pericarpio. Además, casi siempre hay una pequeña cantidad de arroz paddy.
- **Arroz semiblanqueado o blanqueado, pulido o glaseado.** En este tipo de arroz se ha eliminado el pericarpio, por medio de una molienda o semimolienda, arroz sin cáscara y partes externas. Para ello hay que pasar el arroz por conos de blanquear especiales. También puede aplicarse dicho tratamiento tras haber sido pulido y glaseado para mejorar su aspecto. El glaseado consiste en revestir los granos con una mezcla de glucosa y talco en bidones de glaseado especiales. El arroz «camolino» que es arroz blanqueado recubierto de una película de aceite también entra dentro de este grupo al igual que el arroz escaldado (parboiled), donde los granos de arroz han sido empapados en agua caliente o vapor y secados. Una vez molido y pulido, este arroz solamente necesita de 20 a 35 min para su completa cocción.

- **Arroz partido.** este arroz se compone de granos que han sido dañados durante la molienda, estos “trozos de grano” son de un tamaño igual o inferior a tres cuartas partes de la longitud media del grano. este tipo de grano se emplea para alimentación de bebés, cereales para desayuno, alimentos para mascotas, sake, harinas de arroz, así como en productos preenvasados o enlatados.

b) Clasificación según el tamaño del grano. Se clasifica el grano según su tamaño y teniendo en cuenta la relación longitud-grosor (Trade EU, 2012).

- El **arroz de grano corto** (o redondo) es casi redondo, y sus granos tras la cocción se adhieren, por ello se usa para preparar arroz con leche y platos similares. La longitud de los granos es igual o inferior a 5,2 mm y una relación longitud-anchura inferior a 2. En este arroz el grano es corto, turgente, casi redondo.
- El **arroz de grano medio** es más corto y turgente se suele para elaborar platos como paellas y risottos. La longitud de los granos es superior a 5,2 mm pero inferior o igual a 6,00 mm y una relación longitud-anchura inferior a 3.
- El **arroz de grano largo** es largo y delgado, y los granos están separados tras la cocción. Los granos tienen una longitud superior a 6,0 mm.

c) En la actualidad existe en el mercado diferentes variedades de arroz las cuales se detallan a continuación (Trade EU, 2012):

- **Della, Delrose y Delmont:** Aquí se mezclan las variedades arroz largo normal y Basmati. Una vez cocidos los granos hinchán como el arroz largo normal pero su aroma es similar al Basmati.
- **Japónica negro:** Es un arroz aromático con un salvado negro, al igual que el arroz pardo este se somete a una mínima transformación para que no pierda las capas de salvado pero requiere de unos 45 a 50 min para su preparación.
- **Arroz pardo de grano largo:** Es un arroz con sabor a frutos secos, el cual conserva el salvado natural y tiene numerosas vitaminas y minerales.

- **Arroz blanco de grano largo:** Es el grano que se obtiene una vez separado de la cascarilla y del salvado.
- **Arroz blanco de grano medio:** Se suele denominar risotto o arroz Arboiro. El grano es de tamaño medio y de cocción suave con la ventaja que puede absorber los sabores y olores, tiene una textura blanda y cremosa absorbiendo hasta cinco veces su peso en líquido.
- **Arroz Arborio:** este arroz tiene un grano corto se suele producir en Italia y se emplea para preparar risottos ya que su elevado contenido en almidón hace que tenga una textura cremosa.
- **Arroz blanco o pardo de grano largo de fácil cocción:** También conocido como arroz escaldado o preablandado, este arroz se vaporiza a presión antes de la molienda lo cual endurece el grano y permite la conservación de sus minerales y vitaminas además de evitar la sobrecocción.
- **Arroz Jasmine o arroz tailandés aromático:** este arroz tiene un grano largo y un aroma a jazmin por lo que se emplea en comidas asiáticas y con marisco. Es muy popular en Tailandia por su aroma dulce y sabor a frutos secos y se suele emplear como sustituto del Basmati porque es más económico.
- **Arroz Kalijira:** Arroz diminuto y aromático cultivado en Bangladesh, de cocción rápida y utilizado sobre todo para la elaboración de postres de arroz.
- **Basmati:** Es un arroz de grano largo que es perfumado, fino y no se aglutina. Cuando se cocina se hincha longitudinalmente en granos largos, finos, muy secos, ligeros, separados y no pegajosos lo cual lo hace muy característico. Además una vez cocido tiene un aroma inconfundible. A su vez se pueden diferenciar blanco y pardo y entre las variedades se encuentran Basmati 370, Basmati 386 (India), Tipo-3 (Dehradun, India), Taraori Basmati (HBC-19, India), Basmati 217 (India), Ranbir Basmati (India), Kernel (Basmati, Pakistán), Pusa Basmati, Super Basmati.
- **Arroz silvestre:** Suele crecer en Norteamérica, el grano es el doble de largo que las variedades asiáticas. A pesar de llamarse silvestre en realidad se trata de unas semillas de tipo silvestre que crece en lagos poco profundos.

1.2.1.3. Valor Nutricional del arroz

El arroz, junto con el trigo y el maíz, es uno de los principales cereales producidos y consumidos en el mundo. Entre los tres representan aproximadamente el 75% de la producción mundial de cereales; el trigo un 28%, el arroz un 26% y el maíz un 25% (Tleppayev, 2013). El arroz es el principal alimento para más de la mitad de la población mundial, especialmente en los países en vías de desarrollo de Asia, donde este cereal contribuye en más de un 70% de la energía diaria que ingiere la población a través de los alimentos (Qian y col. 2010). La composición de sus nutrientes puede variar en función de factores tales como la variedad de arroz, la composición del suelo de cultivo y la climatología. A continuación se hace una breve descripción de los nutrientes del arroz. La Tabla 1.2 muestra la composición nutricional del arroz entero y sus diferentes partes y la Tabla 1.3 el contenido de vitaminas y minerales en la Tabla 1.3 (Pincioli, 2010).




Tabla 1.2. Composición del grano de arroz y sus fracciones (%)

Fracciones	Proteína	Lípidos	Fibra cruda	Cenizas	Almidón	Fibra Dietética
Arroz con cáscara	6,7-8,3	2,1-2,7	8,4-12,1	3,4-6,0	62,1	19,1
Arroz integral	8,3-9,6	2,1-3,3	0,7-1,2	1,2-1,8	77,2	4,5
Arroz blanco	7,3-8,3	0,4-0,6	0,3-0,6	0,4-0,9	90,2	2,7
Cáscara	2,3-3,2	0,4-0,7	40,1-53,4	15,3-24,4	1,8	77,3
Salvado	13,2-17,3	17,0-22,9	9,5-13,2	9,2-11,5	16,1	27,6-33,3
Embrión	17,7-23,9	19,3-23,8	2,8-4,1	6,8-10,1	2,4	N/A

Tabla 1.3. Principales vitaminas y minerales del arroz

Fracciones	Tiamina (vit. B1) (mg)	Riboflavina (Vit.B2) (mg)	Niacina (mg)	α-Tocoferol (mg)	Calcio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)	Fósforo (g)
Arroz con cáscara	0,26-0,33	0,06-0,11	2,9-5,6	0,90-2,00	10,0-80,0	1,4-6,0	1,7-3,1	0,17-0,39
Arroz integral	0,29-0,61	0,04-0,14	3,5-5,3	0,90-2,50	10,0-50,0	0,2-5,2	0,6-2,8	0,17-0,43
Arroz blanco	0,02-0,11	0,02-0,06	1,3-2,4	0,0-0,3	10,0-30,0	0,2-2,8	0,6-2,3	0,08-0,15
Salvado de arroz	1,20-2,40	0,18-0,43	26,7-49,9	2,60-13,3	30,0-120,0	8,6-43,0	4,3-25,8	1,1-2,5
Cáscara dearroz	0,09-0,21	0,05-0,07	1,6-4,2	N/A	60,0-130,0	3,9-9,5	0,9-4,0	0,03-0,07

Hidratos de Carbono

Los hidratos de carbono se encuentran fundamentalmente en el endospermo del arroz. Una vez molido, el arroz está constituido fundamentalmente por almidón, azúcares libres y polisacáridos no almidonados. Por otro lado, la cascarilla está compuesta por almidón y polisacáridos no almidonados como la celulosa y hemicelulosa (OECD, 2004). El salvado y el germen se componen principalmente de almidón. Polisacáridos tales como celulosa y hemicelulosa y parcialmente de azúcares libres, así como una pequeña parte de almidón.

Tal y como se ha mencionado anteriormente, el almidón es el componente mayoritario del arroz y consiste en amilosa y amilopectina. Los arroces que no se adhieren o aglutinan contienen entre un 15-30% de amilosa y entre 70-85% de amilopectina, mientras que los arroces que se aglutinan están constituidos fundamentalmente por amilopectina y menos de un 5% de amilosa (Juliano y Villareal, 1993).

Fibra dietética

La fibra dietética se pierde durante la molienda y el prensado del arroz.

Proteína

El arroz puede contener diferentes cantidades de proteínas que dependen de la variedad del arroz así como de las condiciones de cultivo (maduración, fertilidad, estrés hídrico). Las proteínas que suelen formar parte del arroz son la albumina (2-5% de la fracción proteica), globulina (2-10% de la fracción proteica), prolamina (1-5% de la fracción proteica), gluteína (75-90% de la fracción proteica) (Hoseney, 1986). La albumina y la globulina se localizan fundamentalmente en la capa exterior y la prolamina y gluteína en el interior del grano. A pesar de que la composición de aminoácidos depende de la variedad de arroz, el arroz es el cereal que tiene mayor composición de aminoácidos, un total de 61, el trigo tiene unos 39 aminoácidos y el maíz unos 31 aminoácidos, siendo la lisina el aminoácido mayoritario en el arroz.

Lípidos

El germen, la capa de aleurona y la sub-aleurona es donde se concentra el mayor contenido lipídico del arroz. La mayoría de los lípidos son neutros, hay triglicéridos donde el glicerol esta esterificado con tres ácidos grasos (oleico, linoleico y palmítico). Además también hay ácidos grasos libres, esteroides y diglicéridos y lípidos conjugados.

Minerales

La concentración y tipo de minerales del arroz depende de variables tales como el cultivo, los fertilizantes y el suelo. Además, la distribución es irregular siendo menor el contenido de minerales en el grano que en el salvado. El silicio es el elemento mayoritario cuando el arroz tiene aún la cascarilla, el grano también contiene potasio y magnesio.

Vitaminas

El arroz integral suele contener más vitaminas que el blanco ya que estas se encuentran en el endosperma y en el salvado. Las vitaminas que suele contener son las del grupo B (B1, B2, B3, B6, B12) y la vitamina E, también pueden contener vitaminas hidrosolubles como la A y D pero a bajas concentraciones.

1.2.2. Distribución y Consumo del Arroz

1.2.2.1. La producción de arroz

El arroz, se cultiva actualmente en más de cien siendo la producción total de 715 millones de toneladas de arroz con cáscara por año, 480 millones de toneladas de arroz blanqueado (Muthayya y col. 2014). La producción de arroz se concentra fundamentalmente en Asia donde se produce más del 90% de la producción mundial (figura 1.4). De los 745 millones de toneladas de arroz con cascarilla producidos en todo el mundo durante el 2014, 675 millones corresponden a países asiáticos siendo China y la India los del más del 50% de la producción total (Figura 1.4). Otros países productores son Indonesia, Bangladesh, Vietnam, y Tailandia, Brasil, EE.UU. y EU (Figura 1.4) (EU Rice Economic Fact Sheet, 2015). La producción de cereales en África ha aumentado de manera constante desde 1961

hasta 2007 que han pasado del 9,3% al 15,2% del total mundial. Sin embargo, en este continente, sólo el 54% del consumo de arroz se suministra a partir de la producción local (Muthayya y col. 2014).

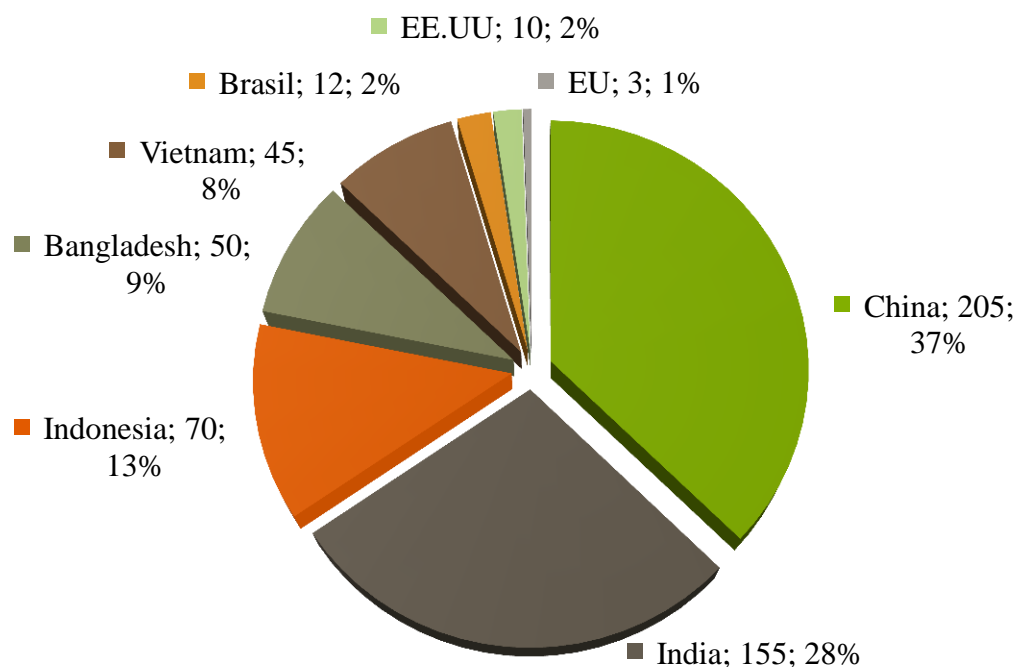


Figura 1.4. Mayores países productores de arroz (mt).

Fuente: European Commision. Fact Sheet (2015)

En los últimos años la producción de arroz en la UE ha sido de unos 1.8 millones de toneladas en un área de 450 000 ha, dos tercios de la producción es variedad japónica y un tercio variedad Inca (EU Rice Economic Fact Sheet, 2015). Los cultivos se concentran fundamentalmente en Italia y España donde se produce más del 80% del arroz (Figura 1.5).

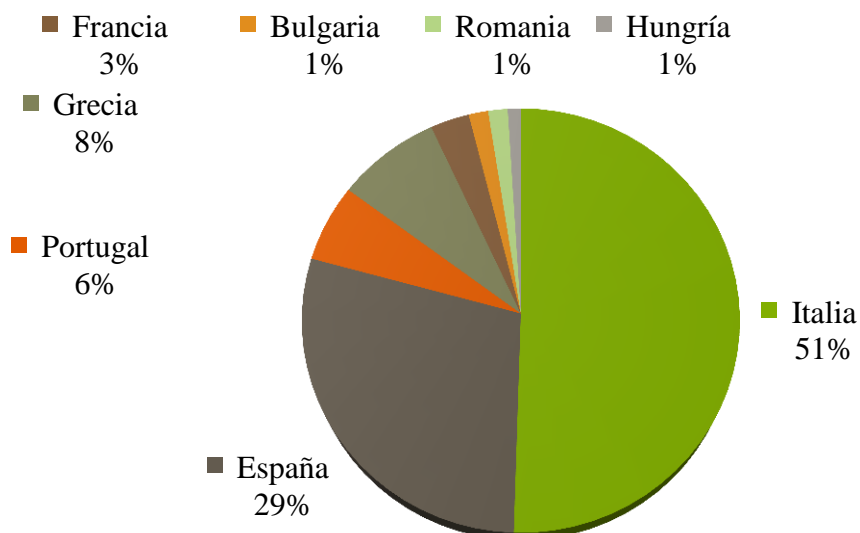


Figura 1.5. Contribucion de paises productores de arroz en la UE

Fuente: EU Rice Economic Fact Sheet (2015)

En España durante el periodo 2014/2015 la superficie de cultivo fue de 110.419 ha y la producción de 861.103 toneladas, hay que resaltar que la superficie de producción está concentrada en cinco comunidades siendo Andalucía y Extremadura las mayores productoras. Entre las cinco se cubre más del 97% de la producción y de la superficie cultivada (Figura 1.6) (MAPAMA, 2012).

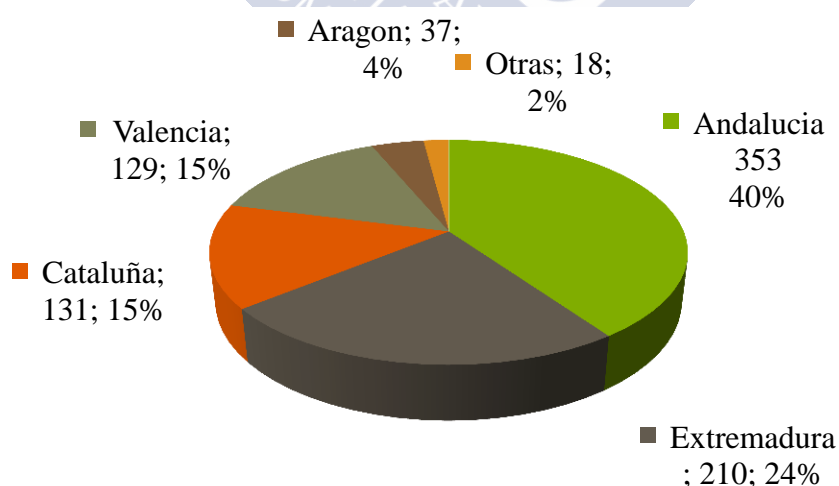


Figura 1.6. Distribución de la producción de arroz por CCAA (mt)(Cosecha 2012))

Fuente: MAGRAMA (2014)

En 2012, la superficie cultivada de arroz en Kazajistán fue de 93,1 mha y se distribuye entre la región de Kyzylorda y la región de Almaty (Tleppayev, 2013). La región Kyzylorda es el territorio líder en producción de arroz, donde se cultiva este cereal desde la antigüedad siendo un sector tradicional de la economía regional. Dado que el arroz necesita una importante cantidad de agua y luz la presencia del profundo río Syrdarya junto con la existencia de muchos días de sol hace que la región de Kyzylorda sea la más favorable para el cultivo del arroz de grano redondo de las variedades "Marzhan", "Líder" "Novator" y "Yantar". En 2009 la producción bruta de arroz fue de 307.000 toneladas (Tleppayev, 2013). En ese mismo año Kazajistán exportó 1.100 toneladas de arroz, un 0.01% de las exportaciones mundiales, ocupando la posición 68 en el ranking de países exportadores. Las exportaciones de Kazajistán se dirigieron principalmente hacia cinco países: Uzbekistán - 46,1%; Ucrania - 22%; Turkmenistán - 20,3%; Federación Rusa - 5,9%; Kirguistán - 5,6% (Kaznex Invest, 2010). Por otra parte a nivel de importación, el arroz importado en Kazajistán procede principalmente de Vietnam, Pakistán, Rusia, Turquía y China (Análisis del comercio exterior de Kazajistán, 2014).

1.2.2.2. El consumo de arroz

Aproximadamente el 83% (415 millones de toneladas) del arroz se utiliza para consumo humano, el 3% para piensos y el 14% para otros usos como semillas, industria, desechos. China (30%) y la India (21%) son los mayores consumidores de arroz del mundo, solo estos dos países consumen la mitad del arroz consumido en el mundo (Figura 1.7). Otros países con un alto consumo de arroz son Indonesia, Bangladesh, Vietnam y Filipinas. La UE se sitúa en la posición veinte consumiendo un 0.6% del total (Figura 1.7) (EU Rice Economic Fact Sheet, 2015).

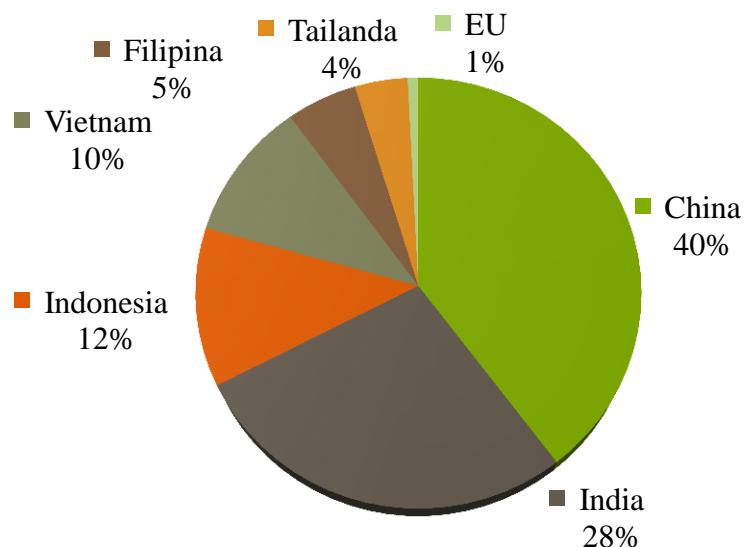


Figura 1.7. Porcentaje de consumo de arroz en países consumidores de arroz

El arroz es un alimento básico, viendo la figura anterior se puede concluir claramente que más del 90% del arroz producido se consume en Asia. Desde los años 60s hasta los 90s ha habido un aumento del consumo de arroz a nivel mundial siendo en Asia el incremento de 85 kg/año a 103 Kg/año y el global de 50 a 65 kg/año. Sin embargo, desde principio de los noventa hasta la fecha el crecimiento económico de los países asiáticos (China e India) y la diversificación de la dieta con la introducción de productos tales como la carne, frutas, verdura, frutas y leche han frenado el aumento del consumo mundial de arroz. Por otro lado, el consumo de arroz aumento en el África subsahariana, Estados Unidos y la Unión Europea (Mohanty, 2013).

En la UE el arroz se emplea usualmente en los países del mediterráneo como son Italia y España donde se consume en platos tradicionales como son el risotto y la paella, cocinados con la variedad Japónica. El consumo anual en los países del norte de Europa es de 3,5-5,5 kg y en los del surde 6-18 kg. Teniendo en cuenta que la superficie arroceras total de los 27 países miembros de la UE es de unos 450.000 ha y la producción anual media es de 3.1 millones de toneladas, la producción de la autosuficiencia de la UE en arroz es del 70%, siendo Italia y España los mayores productores de arroz (Ricepedia, 2017). Asimismo, el consumo per cápita de arroz en Europa en 2014 fue de 3,84 kg/año y en Kazajistán de 18,29 kg/año en 2013 (FAOSTAT, 2017).

1.3 EL TRIGO

1.3.1. Generalidades, variedades y valor nutritivo

La palabra trigo proviene del latín, *triticum* que significa “triturado” o “trillado” (Leon y col., 2007). Es una planta herbácea que pertenece a la familia de las gramíneas que dan un fruto farináceo llamado grano que tiene un alto contenido alimenticio y de prolongada conservación. El género *triticum* comprende alrededor de 30 tipos de trigo, con suficientes diferencias genéticas para ser consideradas especies distintas o subespecies, la mitad son silvestres.

Las variedades más importantes de trigo y las que se comercializan mundialmente son tres; trigo blando, trigo club y trigo duro. La variedad más cultivada por la calidad de sus harinas debido a su alto contenido proteico es el llamado **trigo común, trigo blando o pan** (*Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*, también llamado *triticum vulgare*), por otro está el **trigo club** (*Triticum aestivum* L. subsp. *compactum* (Host) Mackey) que tiene bajo contenido proteico y por tanto, poco gluten, y por último, hay el **trigo duro** (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.) Husn.) que se emplea para la elaboración de sémolas que posteriormente se utilizaran para la fabricación de pastas (Moreno y col. 2001). Si se comparan las tres variedades la producción de trigo blando abarca el 95% de la producción global y el semolero tan solo un 5%.

El trigo blando, el más cultivado, se puede clasificar según la fecha de la siembra en variedad de invierno y variedad de primavera. La principal diferencia entre ellas es que el trigo de invierno necesita un período de temperaturas bajas para florecer (entre 0 y 10 °C). Se suele sembrar en otoño y se suele cosechar unos once meses después. En cambio, el trigo de primavera se siembra, como su nombra indica, en primavera y se cosecha unos seis meses después. El trigo de primavera tiene un periodo vegetativo más corto lo cual es una ventaja frente a la escasez de agua (Bowden y col. 2007).

El grano de trigo tiene una forma ovalada y es la unidad reproductiva de la planta, así como el producto de uso final, se puede dividir en tres componentes; cubierta de la semilla, salvado o parte externa, el embrión (germen) y el endospermo (parte más interna). En la mayoría de las variedades de trigo, la proporción de cada componente es: 14% de cubierta,

83% de endospermo y 3% de embrión. El salvado es una capa de proteína que rodea el endospermo, a su vez el endospermo es el tejido que rodea el embrión proporcionándole energía para la germinación y constituye la mayor parte del grano. Es donde se almacena el almidón y la proteína que se muele para la producción de harina blanca (Bowden y col. 2007).

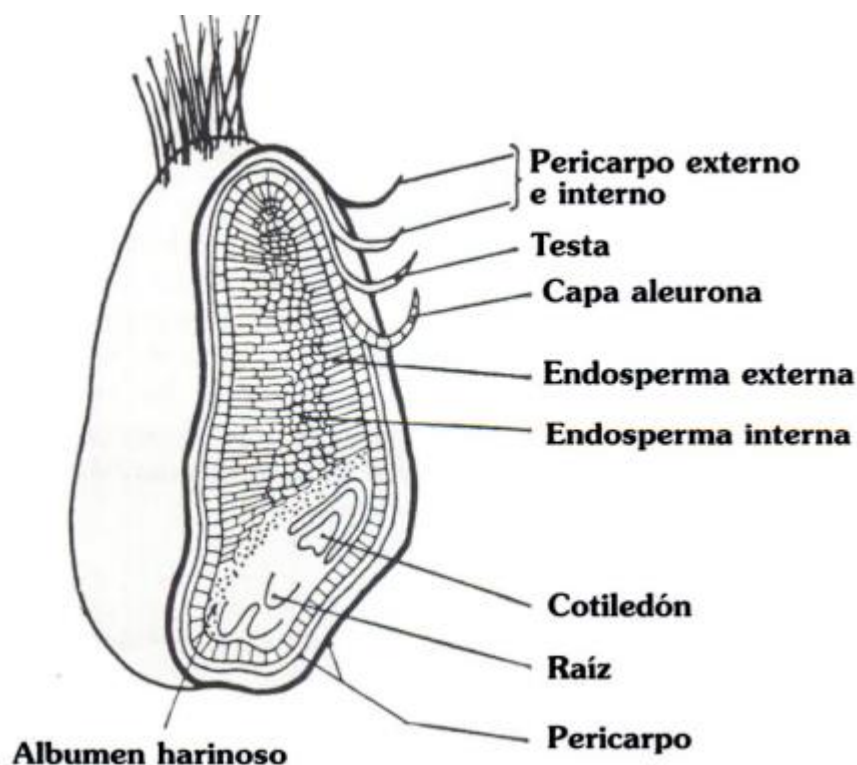


Figura 1.8. Estructura de un grano de trigo.

Fuente: de MAcCance, Lancet (1946)

Según Gerard (1998), la composición del trigo varía según la región geográfica. En cualquier caso, la composición química media de un grano de trigo en la madurez fisiológica es de: 68% de carbohidratos, 13% de proteína cruda, 13% de agua, 2% de fibra bruta, 2% de grasa y 2% de ceniza (Gerard, 1998). En las Tablas 1.4 y 1.5 se muestra el valor nutricional del trigo y su cáscara.

Tabla 1.4. Macronutrientes del Trigo

Nutriente	Proteínas (g)	Almidón (g)	Cenizas (g)	Fibra dietética (g)	Lípidos (g)	Saturados (mg)	Monoinsaturados (mg)	Poliinsaturados (mg)
Grano	12,6	62,4	1,57	12,2	1,54	0,27	0,20	0,63
harina de grano	13,7	60,0	1,60	12,2	1,87	0,32	0,23	0,78
Harina Refinada	9,7	58,9	0,58	5,5	1,48	0,30	0,19	0,85
Cáscara	15,6	14,1	5,79	42,8	4,25	0,63	0,64	2,21

Fuente: Zuniga (2007)

Tabla 1.5. Vitaminas y Minerales del Trigo (mg/Kg)

Nutriente	Riboflavina	Niacina	Vitamina B5	Vitamina B6	Vitamina E	Hierro	Magnesio	Fósforo	Potasio	Zinc	Cobre	Selenio
Grano	0,12	5,46	0,95	0,30	1,01	3,19	126	288	363	2,65	0,43	71
harina de grano	0,22	6,37	1,01	0,34	0,82	3,88	138	346	405	2,93	0,38	71
Harina Refinada	0,07	1,20	0,25	0,04	0,05	1,26	25	107	149	1,02	0,19	15
Cáscara	0,58	13,58	2,18	1,30	1,49	10,57	611	1.013	1.182	7,27	1,00	78

Fuente: Zuniga (2007)

1.3.2. Distribución y Consumo del Arroz

1.3.2.1. La producción del Arroz

Los cultivos de cereales ocupan aproximadamente la mitad de la superficie total de cultivo del planeta. En los países desarrollados, la mayor parte del grano se emplea para alimentar a los animales de abasto (75%), sin embargo en los países en desarrollo la mayoría del grano se destina a las necesidades de alimentos de las personas (90%). Según los datos publicados por el departamento de estadística de la FAO (FAOSTAT) los seis principales países productores de trigo del mundo son China, India, Estado Unidos, Francia, Canadá y Alemania (Figura 1.9). Sin embargo, hay que resaltar las crecientes exportaciones de Ucrania y Kazajistán (OECD-FAO, 2015)

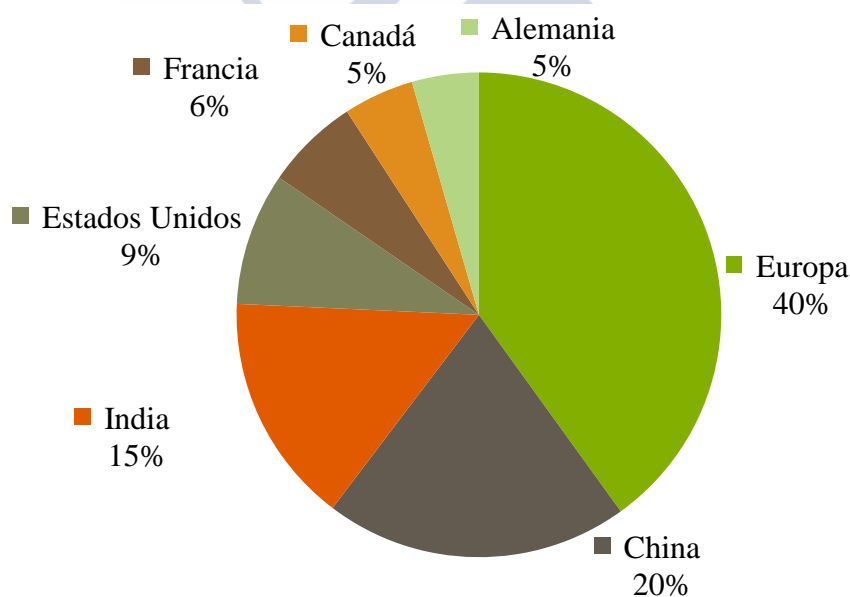


Figura 1.9. Principales países productores de trigo del mundo

Hay que resaltar que si se consideran todos los países de la UE en conjunto Europa se coloca primera en el ranking de países productores de trigo, incluso por encima de China (Figura 1.9) (FAOSTAT, 2017). Por otro lado, si se considera cada país de la UE de manera individual, Francia es el principal productor, seguido de Alemania y Reino Unido (Figura

1.10). España, en 2014, se colocó en séptimo lugar, con una producción de 6,4 millones de toneladas siendo el 90% de su la producción trigo blando, siendo las principales comunidades productoras Andalucía, Aragón, Cataluña, Castilla-León y Castilla-Mancha y en particular, Andalucía con una producción de 36 toneladas en el periodo 2013-2014 (Figura 1.11) (MAGRAMA, 2014).

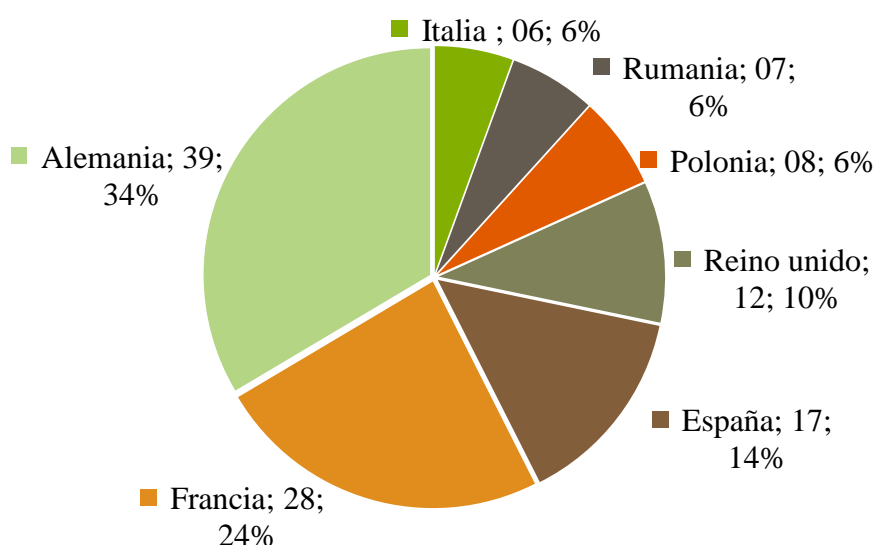


Figura 1.10. Principales países productores de trigo de Europa (Mt)

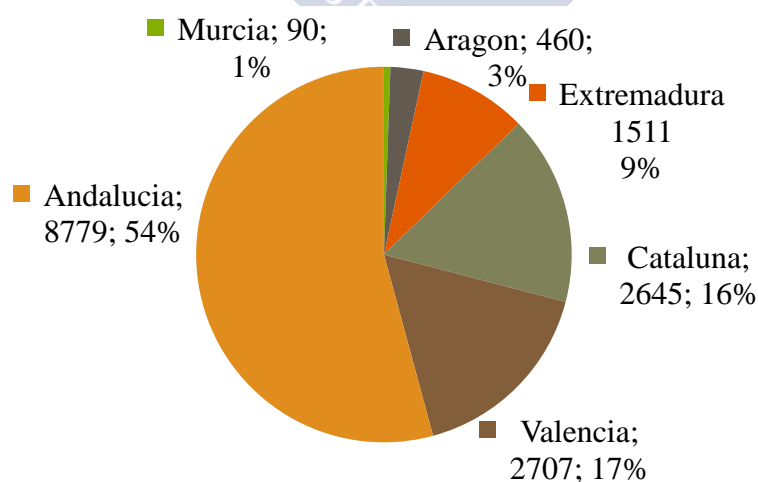


Figura 1.11. Producción de trigo blando en España por CCAA (2013/2014) (mt)

Fuente: MAGRAMA (2014)

En los últimos años, en Kazajistán los cultivos de cereales ocupan más del 80% de la superficie sembrada, se producen alrededor de 13,5-20,1 millones de toneladas de grano. En 2012 se produjo un total de 12,9 Mt de cereales y legumbres de los cuales el 76.5% en peso correspondió al trigo (Sigarev, 2013). En 2014, se produjeron un total de 12,9 millones de toneladas de trigo situándose en la posición 19 de 177 países productores de trigo (FAOSTAT, 2017). En el norte de Kazajistán se cultiva trigo de primavera donde se cultiva y en el sur es más frecuente el trigo de invierno (Tleppayev, 2013; FAO, 2003). Hay que resaltar que el trigo de Kazajistán se caracteriza por tener alto niveles proteicos y por lo tanto de gluten lo que confiere a la harina gran elasticidad (Abugalieva y Peña, 2010).

1.3.2.2. El consumo de trigo

De acuerdo con los datos obtenidos del departamento de estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la FAOSTAT, el país que más trigo consume del mundo es China, seguido de India, Rusia, Estados Unidos, Pakistán y Turquía (Figura 1.12) (FAOSTAT, 2017; Nation Master, 2017).

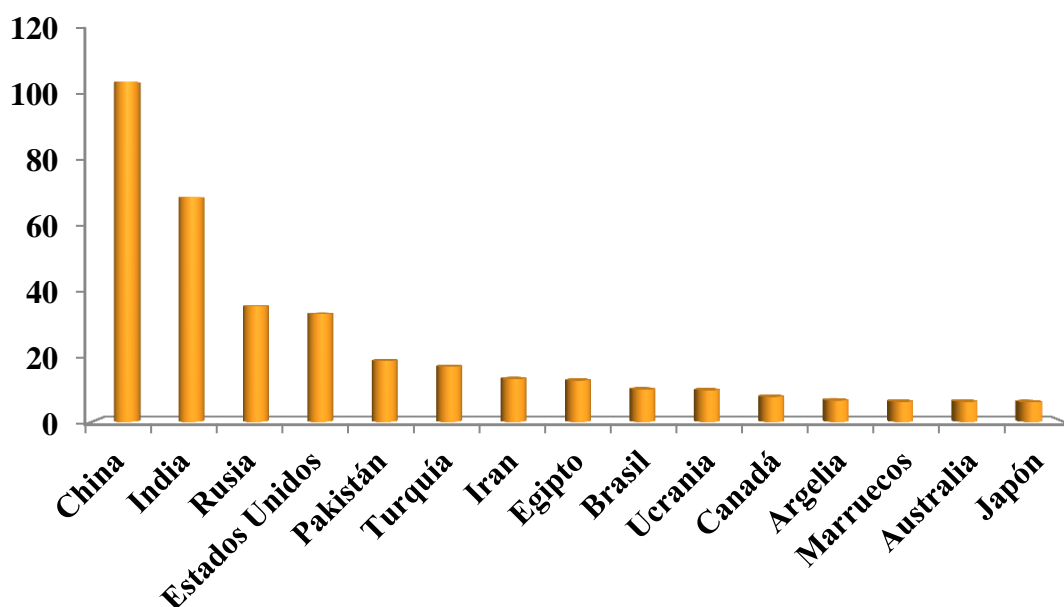


Figura 1.12. Consumo de arroz en diferentes países (t)

Se puede decir que el consumo mundial por habitante de trigo es aproximadamente 67 kg por año, siendo alrededor de 60 kg en países en vía de desarrollo y 97 kg en países desarrollados (FAO, 2016). Los países más poblados, China e India, consumen aproximadamente entre el 25 y 22 %, respectivamente, del trigo total. Hay que decir que el trigo también se emplea en producción animal y en la industria para la producción de almidón y etanol. De hecho, el mayor consumo de trigo para estas aplicaciones ha sido en la UE donde 5.5 millones de toneladas de trigo fueron empleadas para almidón y 3,2 millones para etanol (FAO, 2014).

En Asia Central, las preocupaciones por la seguridad alimentaria tras la disolución de la Unión Soviética, ha hecho que en los diferentes gobiernos se llevasen a cabo políticas para financiar la autosuficiencia del trigo a expensas de otros productos básicos. En particular, en Kazajistán el consumo de trigo aumentó de 148 kg/año en 1990 a 200 kg/año en 1997 (Mazzocchi y col., 2014) Según datos publicados por la FAO los kazajos consumieron en el año 2000 un total de 203,9 kg de trigo por cápita (FAO, 2003), en comparación con los datos publicados de otros países se podría decir que el consumo de trigo por la población kazaja es uno de los más altos del mundo. Sin embargo estas cifras pueden oscilar de acuerdo a la fuente que se indique.

1.4 TALKAN: PRODUCTO TRADICIONAL KAZAJO A BASE DE CEREALES

El denominado "Talkan" (талқан en kazajo) es un producto que se obtiene a partir del granos tostados de diversos cereales como el mijo, la cebada, el trigo, la vena o el maíz, se prepara con leche o agua caliente, sal, mantequilla y azúcar. Es especialmente consumido por sus propiedades nutricionales, siendo una fuente importante de minerales (Na, K, Ca, Mg y Fe), vitaminas (E y B) y fibra dietética. Además, el Talkan es también una combinación racional de carbohidratos simples y complejos que lo hacen fácilmente digerible (Zharkeev, 2011; Tarasovskaya, 2012). (Figura 1.13).



Figura 1.13. Imágenes de Talkan (harina y producto elaborado)

El Talkan empezó a prepararse ancestralmente por pueblos de origen turco. Al parecer, su origen se encuentra en diversas nacionalidades de la República de Altai. Esta especie de harina de granos germinados y posteriormente tostados está extendida en los pueblos turco-mongoles del sur de Siberia y Asia Central (Borodulin y col. 2014). De este modo en Tuva, Jakasia, Bashkortostán, Altai (repúblicas pertenecientes a la federación rusa con una buena parte de autogobierno) y en otras regiones de Rusia, hay un pequeño número de pueblos, como los Teleuts, Bashkires, Chechenos, Chelkans o los Telengit que han preservado en su cultura la preparación y consumo de Talkan (Zharkeev, 2011) (Figura 1.13)

Como regla general, los cereales nacionales se cultivan de forma artesanal, utilizando una gran cantidad de mano de obra. Las aportaciones realizadas por los científicos de Kazajistán (Kuzembayeva (2010) que han estudiado la mejora de la tecnología del envasado de cereales para el Talkan han sido de vital importancia. Sin embargo, la tecnología y dispositivos propuestos, tan sólo permiten una gama limitada de productos para el Talkan ("талқан") lo cual no resulta suficiente en términos de viabilidad económica (Zharkeev, 2011). Además hay que añadir que Kuzembayeva (2010) ha promocionado el desarrollo de Talkan de mijo, así como la adición de plátano para enriquecer aún más el Talkan con minerales y vitaminas. Posteriormente, Zharkeev (2011) desarrolló un Talkan a partir de mijo integral durante la realización de su tesis doctoral.

La población de las montañas de la república de Altai consume habitualmente platos de cebada tostada como Charak (чарак), Talkan (талқан), Dyarma (дьярма). Estos platos se preparan a partir de harina molida obtenida de cebada tostada. Como este producto está hecho

a partir de granos enteros, podemos señalar que sus valores nutricionales serán los mismos que los de la cebada. El endospermo del grano de cebada contiene proteínas (hordeínas y glutenina) con buenas cualidades de cocción, lo cual da motivos para pensar en la hipótesis de que estos alimentos poseen una alta funcionalidad, buenas propiedades tecnológicas y unas buenas propiedades nutricionales por su uso conjunto con otros cereales y leche (Borodulin y col. 2014).

Los Tuvas (población que vive en la República Altai en Rusia) tradicionalmente hacen Talkan de mijo y cebada, y un buen número de otros tipos de alimentos. El mijo se remojava en agua, y se freía empapado. Después se molía en un mortero de madera, obteniendo así la harina Talkan. Este proceso para obtener Talkan se llama hevek (en kazajo хевек) (Mongush, 2013). Por otro lado, los kazajos usan cebada y trigo frito para hacer el Talkan que ha servido de soporte alimenticio fundamental en tiempos difíciles (Segizbayuli, 2011). EL Talkan se comenzó a producir en la región de Kostanai dentro de Kazajistán (Figura 1.2). La tecnología empleada en esta región consistía en echar grano en una tolva y posteriormente se lavaba con una máquina especial, entonces en esta lavadora se presenta en bandejas. El grano de las bandejas se seca y es donde germina. Es necesario que el grano sea frito a 250 °C y molerlo en un pequeño molino esperando 24 h antes de poder usarlo (Anónimo, 2013).

1.5. ELEMENTOS Y SUSTANCIAS TÓXICAS

1.5.1 Elementos Tóxicos

En este apartado se han incluido la descripción de varios elementos cuya ingesta es perjudicial para la salud humana. Entre ellos podemos encontrar el cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg), uranio (U) y estroncio (Sr) que son elementos tóxicos y que no tienen ninguna función en el organismo (Mansour, 2014; Buachoon, 2014). Por otro lado, tenemos el cromo (Cr) y el arsénico (As) que son necesarios para el organismo pero que a concentraciones superiores pueden ser tóxicos. En la literatura científica se pueden encontrar diferentes definiciones para los metales pesados, pero se suele emplear este término para definir a aquellos elementos cuya densidad es mayor o igual a 5 g/cm³, un peso atómico mayor de 20 y

varios estados de oxidación (Bohn y col., 1985). Además, se caracterizan porque son muy estables y persistentes en el medio ambiente, hecho por el cual concentración ha aumentado considerablemente como consecuencia de la actividad humana (la industria, la agricultura y el transporte). Los suelos y las carreteras son los "receptores" de metales pesados procedentes de una gran variedad de fuentes, incluyendo las emisiones de vehículos, residuos de combustión del carbón y otras actividades (Pivić y col. 2013). Otra característica es que suelen presentar efectos sinérgicos y sus concentraciones van aumentando a medida que se sube en la cadena trófica, ya que una vez en el ambiente, pueden sufrir transformaciones a diferentes formas móviles y/o pueden ser inmovilizados en ciertas estructuras ambientales (Cañizares-Villanueva, 2000). A continuación se describen las características más importantes de los elementos tóxicos seleccionados para esta investigación.

1.5.1.1. El Cadmio

Las concentraciones de Cd en la corteza terrestre varían entre 1-90 mg/kg en rocas ígneas y metamórficas y tienden a disminuir en los depósitos sedimentarios. El Cd se encuentra, como impureza, en los fertilizantes a base de fosfatos, así como lodos, estiércol y compost. Su concentración en suelos es muy variable dependiendo de la región, modulándose con factores tales como las diferencias regionales, la variación anual, deposición de la atmósfera, uso de fertilizantes, propiedades del suelo (tipo, pH, origen, composición, materia orgánica, el contenido de arcilla, la capacidad de intercambio catiónico, cloro soluble, azufre, sodio) (Rafiq y col. 2006). En las plantas, el Cd se transporta por convección, difusión e interceptación desde el suelo por las raíces (Jafarnejadi y col. 2010).

Las personas fumadoras inhalan el Cd a través del humo inhalado quedándose en los pulmones, y a pesar de que hay numerosas industrias que emiten Cd a la atmósfera, éste es rápidamente transportado y depositado en el suelo por acción de la lluvia. Una vez en el suelo son las plantas la que los absorben. El Cd no es fitotóxico pero si lo acumulan las plantas que luego consumen los animales se convierten en la vía de entrada en la cadena alimentaria, lo que plantea una preocupación desde el punto de seguridad alimentaria (Jafarnejadi y col. 2010; McLaughlin y col. 1999).

Estudios realizados en animales de experimentación ha demostrado que el Cd es extremadamente tóxico. A pesar de que solamente un 5-10% del Cd ingerido es absorbido, el Cd se acumula en el cuerpo a lo largo de los años causando daños renales. Se acumula en los huesos y los riñones, en particular, en las células tubulares proximales, conduciendo a una disfunción renal, motivo por el cual su sintomatología cursa con proteinuria y desmineralización de los huesos. En general, los niveles de Cd en sangre suelen ser inferiores a 1 µg/l (EFSA, 2011; Motarjemi, 2013). El primer caso conocido de intoxicación por Cd data de 1858, año en el cual un grupo de personas que usaban carbonato de Cd como agente abrillantador mostraron síntomas gastrointestinales agudos y dificultad respiratoria. Por otro lado, en 1942 el sistema público de salud de los Estados Unidos detectó en personas que habían consumido alimentos y bebidas contaminadas con Cd sintomatologías tales como dolores gastrointestinales agudos, vómitos y diarrea. A medida que el uso de Cd se extendió en la industria, se incrementó el desarrollo de enfisemas pulmonares y proteinuria en personas que trabajaban con este elemento (Brimer, 2011). Las concentraciones en los alimentos varían, siendo las verduras de hojas, raíces y tubérculos las que tienen generalmente mayores concentraciones tal y como se ve en el Tabla 1.6 (McLaughlin y col. 1999).



Tabla 1. 6. Concentraciones de cadmio (mg/kg en peso seco) en partes comestibles de los cultivos de alimentos

	Numero de muestras	Minima	Maxima	Promedio
Frutas	190	0,004	0,,012	0,005
Cereales	1302	0,014	0,210	0,047
Verduras				
Semillas	394	0,016	0,130	0,028
raíz/bombilla	878	0,029	0,710	0,208
Fruto	322	0,021	0,540	0,237
Hojas	297	0,093	0,880	0,560

Fuente: McLaughlin y col. 1999

Datos publicados por Zhao y col. (2004) indican que en el trigo la mayoría del Cd se encuentra en los granos, es de suponer por tanto que lo mismo ha de ocurrir en el arroz. Esto explicaría que la mayor carga de Cd ingerida por la población japonesa y coreana proviniesen del arroz ya que representaba el 40-50% de la carga total de Cd ingerida (Fangmin y col. 2006; Kim y Wolt, 2011). La evidencia de los efectos adversos para la salud derivados del consumo de alimentos contaminados con Cd, es indiscutible. En cualquier caso también se ha señalado que la biodisponibilidad del Cd depende de los valores de Fe en la ingesta, estudios con animales modelos han indicado que el Zn, Ca, P, además de otros elementos y componentes de los alimentos afectan a la biodisponibilidad del Cd (McLaughlin y col. 1999). La selección de plantas puede reducir al mínimo la acumulación de Cd en los cultivos y maximizar las concentraciones de los antagonistas de la asimilación del Cd por los seres humanos (McLaughlin y col. 1999).

1.5.1.2. El plomo

El Pb se ha utilizado en todo el mundo desde la antigüedad por su maleabilidad, resistencia a la corrosión, y bajo punto de fusión. Aunque el Pb tiene formas orgánicas e inorgánicas, son las formas inorgánicas las que predominan en el medio ambiente. Las concentraciones de Pb en los suelos sin contaminación se encuentran en el intervalo de 10-50 mg/kg, sin embargo, en suelos contaminados la concentración es de 30-100 mg/kg (Liu y col. 2003; EFSA, 2010). El Pb en la materia vegetal tiene origen atmosférico en un 73-90%. Esto es debido a que el Pb tiene muy poca movilidad en el suelo y se suele acumular donde hay materia orgánica, por lo que suele encontrarse a nivel de superficie en el suelo (Kabata-Pendias y col., 1984, Rafiq y col. 2006).

Según la EFSA (2010), los cereales, las verduras y el agua del grifo son los factores que más contribuyen a la exposición al Pb en la población europea. Según la Organización mundial de la Salud (WHO) (2000), en general, la mayoría de los alimentos contribuyeron con menos del 1% a la exposición total al Pb de las personas. Sin embargo, en China, los cereales y las legumbres aportaron la mayor parte de la ingesta de Pb (WHO, 2000). La Tabla 1.7 muestra concentraciones de Pb en cultivos de trigo de Australia, Países bajos y Estados Unidos (McLaughlin y col., 1999).

Tabla 1. 7. Las concentraciones de plomo (mg/kg) en cultivos de trigo

	Número de muestras	Promedio	Rango
Australia (Queensland)	267	0,027	<0,01±0,244
Países Bajos	84	0,16	0,03±0,65
Estados Unidos	288	0,037	<0,001±0,716

Fuente: McLaughlin y col. (1999)

1.5.1.3. El mercurio

El Hg se presenta en una amplia gama de minerales en la corteza terrestre con un valor medio de 0,08 mg/kg, se asocia al Zn, Fe y otros sulfuros complejos. Se encuentra de

forma natural en la naturaleza pero también hay fuentes antropogénicas. Ya los griegos, romanos y egipcios lo usaban en cosméticos, pomadas y pinturas decorativas. Posteriormente, en la Edad Media se usaba como remedios medicinales y ya Paracelso notó sus efectos tóxicos popularizando frase “la dosis hace el veneno”. Sus concentraciones en suelos no contaminados son generalmente bajas (20-150 $\mu\text{g/kg}$) y en suelos contaminados con residuos mercuriales y fungicidas pueden llegar a concentraciones por encima de 120 mg/kg .

Al igual que para el caso del Cd y el Pb, la adsorción de Hg en el suelo depende de numerosos factores tales como la forma química del Hg, constituyentes del suelo, el pH, el tipo de cationes, el potencial redox, y la composición del electrolito de fondo. Al igual que para el caso del Pb, la disponibilidad de Hg en el suelo para plantas es baja, acumulándose la mayoría del Hg en la raíz sirviendo de barrera para la captación de este elemento. Afortunadamente, la absorción de Hg desde del suelo por la mayoría de los cultivos es menor que para el caso del Cd o el Zn. Sin embargo, la exposición humana a este elemento tóxico tiene lugar por medio del suelo (Patra y col., 2004). Hay que decir que las plantas productos de alimentos toleran concentraciones más elevadas de Hg y Pb que otras plantas más sensibles, las cuales que muestran más rápidamente síntomas de toxicidad. Este hecho supone un serie riesgo para la salud humana (Alloway, 1990; Wierzbicka y Antosiewicz, 1993). El Hg depositado sobre las hojas de las plantas puede ser transportado al interior y parece contribuir significativamente a la concentración total Hg en los cultivos (Mosbaek y col., 1988). De hecho, se han detectado niveles superiores de Hg en cultivos localizados en lugares cercanos a zonas altamente industrializadas (Wojciechowska-Mazurek y col., 1995).

El Hg que hay en el medio ambiente puede encontrarse en tres formas químicas; metálico o elemental, inorgánico o sales de Hg y orgánico o metil mercurio. La exposición al Hg metálico es por vía inhalatoria y suele encontrarse en amalgamas dentales, orfebrería artesanal, termómetros, bombillas, erupciones volcánicas. El Hg inorgánico suele encontrarse en cosméticos, productos de fotografía, desinfectantes y en timerosal (antiséptico) por lo que la ruta de exposición es digestiva y cutánea. Por último, el metil-Hg suele encontrarse en pescado, preservantes y fungicidas por lo que la ruta de exposición en por vía digestiva, trasplacentaria y parental (Valderas y col., 2013).

La toxicidad del Hg es elevada, y a pesar de que sus efectos sobre la salud ya se conocían en la época de Hipócrates y Galeno, no fue hasta los 60s, con el desastre de Minamata, que se tuvo plena conciencia de la peligrosidad del Hg, ya que habitantes del pueblo pesquero de Kyushu, situado en la Bahía de Minamata (Japón) se alimentaron con peces y marisco contaminado con Hg que fue liberado a la bahía por una planta química. En este episodio hubo más de 2000 afectados y cerca de 900 muertos, los síntomas descritos eran falta de coordinación, falta de sensibilidad en pies y manos, pérdidas de visión, pérdidas de audición incluso parálisis (Nakamura y col., 1990; Qiu y col., 2008). Con este caso y con estudios posteriores se ha confirmado la intoxicación por causa del metil Hg, en pescado contaminado, de hecho, dicha patología se denomina enfermedad de Minamata.

En general, las concentraciones de Hg en la mayoría de los productos alimenticios están por debajo de 20 $\mu\text{g/kg}$, la entrada del Hg inorgánico a través de la dieta es menor al 10% (Nasreddine y Parent-Massin, 2002; Viñas y col., 2001). La vía principal de entrada del metil Hg (~ 95%) es por el consumo de pescado (Nardi y col., 2009; Qiu y col., 2008) ya que el metil Hg tiene propiedades lipofílicas y de unión a proteínas. Por otro lado, estudios llevados a cabo en Asia donde la población se alimenta básicamente de arroz se ha mostrado que la exposición al metil Hg tiene lugar a través de este cereal y no del pescado (Rothemberg y col., 2011; Zhang y col. Al., 2010). Otra prueba de que la contaminación con metil Hg no solo tiene lugar por la ingesta de pescado contaminado es la publicada en 1972 donde ocurrió el envenenamiento por consumo de metil Hg a través de cultivos agrícolas en Irak, por la ingesta de semillas tratadas con fungicidas (Dalmuji y Tikriti, 1972). Otro estudio llevado a cabo por Feng y col. (2008) encontraron relación directa entre su presencia en arroz y los niveles de este compuesto hallados en el pelo de residentes de una zona minera de Hg en Wanshan (China)

1.5.1.4. El uranio

El U es un elemento radiactivo siendo el isótopo 238 es el más abundante (98 %) y el 235 el más radioactivo (presente en un 1%). La concentración de U es muy variable, desde 3 $\mu\text{g/kg}$ hasta 6 mg/kg en granitos que son las rocas que más U contienen. Por otro lado, la

concentración en suelos varía desde 0,79 a 11 mg/kg en todo el mundo (Kabata Pendias y col., 2001).

En el cuerpo humano se puede encontrar aproximadamente un total de 90 µg de U que se ingieren a través del agua y alimentos (66% en el esqueleto, el 16% en el hígado, 8% en los riñones y 10% en otros tejidos). A pesar de ser muy parecido al Pb, la toxicidad del U es menor. El ion de U, uranilo, es la forma móvil de este elemento en el cuerpo que se deposita en superficies óseas con el tiempo, se elimina por acción de la sangre y se excreta por la orina. El problema de este elemento es la radiación que emite ya que no se detecta y va afectando a la médula ósea con el tiempo. En cereales tales como el alfalfa, trigo y la colza, la concentración del U disminuye con la edad de la planta (Anke y col., 1994). Un estudio llevado a cabo por Müller y col. (2010) indicó que la época de la cosecha influía significativamente en la concentración de U siendo en primavera la época en la que la concentración fue más elevada (Laroche y col., 2005). El mismo estudio indicó que las verduras (coliflor, zanahoria, pepino, champiñón blanco y pimientos rojos), especias y hierbas contenían mayores niveles de U que los alimentos ricos en azúcar, almidón y grasa (margarina, miel, cebada, semillas, cacao, café, harina, trigo) (Müller y col., 2010).

1.5.1.5. El estroncio

El Sr se encuentra naturalmente en la corteza terrestre formando parte de minerales tales como la celestita (sulfato de estroncio) y estroncianita (carbonato de estroncio), también se encuentra, en cantidades menores en depósitos de minerales y/o cerca de las rocas sedimentarias asociadas con yeso, sal de roca, piedra caliza y dolomita. El Sr es un metal alcalinotérreo con cuatro isótopos estables (84, 86, 87 y 88). Además, existen un buen número de isótopos radiactivos, siendo los más comunes los 89 y 90 que se forman durante el empleo de los reactores y explosiones nucleares (WHO, 2010).

Las concentraciones de Sr en cereales y productos de panadería oscila entre 0,2 a 18 mg/kg, para las verduras, frutas, nueces y bayas entre 0,2 a 19 mg/kg, para la carne y los productos cárnicos entre 0,03-1,4 mg/kg, para el pescado y otros mariscos entre 0,4 a 12 mg/kg, para los productos lácteos y huevos entre 0,04 a 7,6 mg/kg, para bebidas entre 0,01 a 1 mg/kg, para productos de confitería entre 0,1 a 5,7 mg/kg y en condimentos valores entre 0,7 a 24 mg/kg (WHO, 2010), y finalmente para alimentos infantiles se indican valores entre 0,5 a

2,8 mg/kg. Para los seres humanos sin exposición ocupacional al Sr, las fuentes de exposición primarias son el agua de bebida y los alimentos, especialmente granos, vegetales de hoja verde y productos lácteos (WHO, 2010).

La intoxicación con Sr da lugar a enfermedades de procesos biológicos donde interviene el calcio como la esquetegénesis. La ingesta de este elemento puede ser a través de diferentes alimentos. Un estudio reciente llevado a cabo en población canaria por González-Weller y col. (2013) detectó los más altos niveles de Sr en nueces (9,759 mg/kg) y los más bajos en agua (0,121 mg/kg). Las concentraciones en nueces se encontraban en orden decreciente respecto al queso, legumbres, hortalizas, pescado, cereales, fruta. Hay que resaltar que no encontraron diferencias significativas cuando se analizaron los niveles de Sr por tipo de alimentos (carne, pescado, leche, productos lácteos, legumbres, cereales, frutos secos) (González-Weller y col., 2013).

1.5.1.6. El cromo

Por lo general, el Cr es un elemento de transición que se encuentra en pequeñas cantidades en la corteza terrestre (rocas y suelos). Se pueden encontrar como Cr (II), Cr (III), y Cr (VI) siendo las formas Cr (III) y el Cr (VI) la que presentan mayor riesgo, en especial la Cr (VI) ya que produce daños renales, úlceras en la piel así como reacciones alérgicas (Goyer y col., 2001; Katz y Salem, 1993; Camean, 1995). Por otro lado, los compuestos de Cr (III) no son irritantes ni corrosivos por lo que se consideran menos tóxicos. A pesar de todo lo anterior, el Cr es esencial para el hombre y los animales ya que interviene en el metabolismo de la insulina como factor de tolerancia de glucosa, y en el metabolismo lipídico y de proteínas por lo que se recomienda una ingesta de entre 50 y 200 µg diarios (Lendinez y col., 2001; Hummel y col., 2007). Las fuentes fundamentales de Cr son carnes, cereales integrales, quesos, hierbas aromáticas y levadura de cerveza. Las carnes, frutas y verduras suelen contener bajos niveles de Cr (Linder, 1988; Aranda y Llopis, 1993).

1.5.1.7. El Arsénico

Por su posición en la tabla periódica, el arsénico (As) muestra propiedades intermedias entre los metales y los no metales. En la corteza terrestre se encuentra distribuido en agua marina y dulce, en plantas y animales. Se suele presentar como sales inorgánicas (arsenatos y arsenitos), en formas alotrópicas, arsénico gris y arsénico blanco (Melo y col., 2007). Los arsenitos, arseniatos y óxidos son los más abundantes en el medio ambiente, también se pueden encontrar en formas orgánicas gracias a la acción de microorganismos que dan lugar a la biometilación. Asimismo, el As inorgánico está presente en el medio ambiente por actividades antropogénicas ya que se emplea en plaguicidas, semiconductores, aleaciones, esmaltes, en la industria química y del vidrio, etc. Sus concentraciones en agua suelen estar por debajo de 10 µg/l y en el suelo están entre 1-40 µg/kg aunque pueden ser superiores en zonas contaminadas o zonas cercanas a depósitos de arsénico (Fernandez y col., 2012).

Los alimentos tienen porcentajes muy variables de compuestos de arsénico (McLaughlin y col. 1999). El As se suele encontrar en pescados y otros productos de la pesca (crustáceos y algas), en granos y aguas de pozo así como manantiales. En los alimentos se puede encontrar tanto la forma orgánica como la inorgánica, siendo las orgánicas las que se absorben más rápidamente y las inorgánicas las más tóxicas. En los organismos marinos se acumula y se transforma a arsenobetaina (Melo y col., 2007). Hay que resaltar que la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) ha incluido al As inorgánico en el grupo de compuesto carcinogénicos para el ser humano (Tsuda y col., 1992) y que recientemente, en abril de 2016, la FAO/WHO ha establecido un límite máximo para el As inorgánico en arroz descascarillado de 15 µg/kg (FAO/WHO, 2016).

Por otro lado, según Ohno y col. (2007), la contribución de cada tipo de alimentos al As total en un estudio llevado a cabo en Bangladesh es de 13% por el agua potable, 4,4% alimentos líquidos, 56% por arroz cocido, 11% alimentos sólidos, y 16% por los cereales. Dicho estudio demostró que en esta población la ingesta de As a través del agua no era tan alta como se esperaba (Ohno y col., 2007). En otro estudio llevado a cabo por William y col. (2005) se analizaron las diferentes especies de As en diferentes tipos de arroz obtenidos en supermercados escoceses. La concentración más alta (0,40 µg/g) y la media más alta (0,26

µg/g) en grano fue obtenida en arroz de grano largo de EE.UU. Por otro lado las principales especies de As detectadas fueron As (III), As (V) y el ácido dimetilarsínico siendo la forma inorgánica la predominante en arroz europeo, bengalí e indio, por el contrario la especie metilada fue la predominante en el arroz procedente de EE.UU.

Rahman y col. (2006) realizaron un estudio en el que observó que la concentración de As en el arroz cocinado se ve afectada por la concentración de As en el arroz crudo, la especie de arroz y el método de cocinado siendo la manera más segura de cocinar el arroz con mucha agua. Por otro lado, Sengupta y col. (2006) demostraron que un lavado preliminar consigue eliminar hasta un 28% del As en el arroz (Sengupta y col. 2006).

1.5.2. Elementos esenciales

Los elementos esenciales son aquellos que el cuerpo necesita incorporar a través de la dieta para asegurar ciertas funciones biológicas tales como construcción de estructuras biológicas, procesos catalíticos, reguladores y protectoras. Dentro de estos se pueden diferenciar dos grupos, el de los elementos esenciales propiamente dichos que se encuentra en el cuerpo a concentraciones de mg/kg e incluyen el calcio (Ca), Magnesio (Mg), Sodio (Na), potasio (K) y Zinc (Zn) y los que se encuentran a concentraciones de µg/kg que se denominan elementos traza esenciales u oligoelementos e incluye el litio (Li), flúor (F), silicio (Si), vanadio (V), boro (B), Cr, manganeso (Mn), hierro (Fe), selenio (Se), molibdeno (Mo), cobre (Cu) e iodo (I). (Ag y col., 2010; Velisek, y col., 2013; Pico, 2015). A continuación se procede a describir brevemente las principales características nutricionales de los elementos esenciales que han sido objeto de estudio en el presente trabajo.

1.5.2.1. El hierro

El Fe es un elemento esencial por su participación en el transporte de oxígeno y en la generación de energía celular, además de ser un cofactor de más de 200 metaloenzimas. Sin embargo, hay que resaltar que un exceso de Fe puede producir toxicidad por la liberación de radicales libres (De la Guardia, 2015). Suele encontrarse en altos niveles en alimentos de origen animales tales como hígado de cerdo y en carne de ternera, así como en algunas plantas, tales como las espinacas (38 mg/kg), el pan integral (20 mg/kg) y manzanas (2,5

mg/kg). Sin embargo, su biodisponibilidad depende de la forma química en la que exista; hemo o no hemo (o hemínico o no hemínico) según sea de origen animal o vegetal. El Fe hemo u orgánico se absorbe de manera más eficiente, de una porción de carne se absorbe entre un 5-35%, mientras que el Fe no hemo solo se absorbe entre un 2-20%. La deficiencia de hierro, anemia, es la deficiencia por micronutriente más prevalente a nivel mundial, afectando en la actualidad a más de 2 mil millones de personas (Sparvoli, 2012). La inhibición de la absorción de Fe depende de las dosis de ácido fítico que está presente en las plantas a altas concentraciones por lo que los niveles de Fe recomendados se satisfacen mejor con la ingesta de carne o pescado que con verduras (FAO, 2012)

Según datos publicados por Teclic y col. (2013) el arroz es que tiene niveles más bajos de Fe de todos los cereales, entre un 5-6 mg/kg. Las concentraciones de este elemento en trigo recogido en la zona de Asia central (de Kazajistán, Kyrgyzstan and Tayikistán) estaba entre 25 y 56 mg/kg aunque variaba entre los 14 genotipos de trigos analizados (Morgounov y col. 2006). Asimismo, en dicho trabajo se observó que el trigo de primavera mostraba mayores concentraciones de Fe que el trigo de invierno.

1.5.2.2. El Zinc

El Zn es un elemento traza importante ya que actúa como factor de enzimas, interviene en la síntesis de proteínas y en la expresión genética (De la Guardia y col., 2015). La deficiencia de Zn está relacionada con un bajo crecimiento o atrofiado, retraso en el desarrollo y disfunción del sistema inmune (Institute of Medicine, 2001) y es también responsable de aproximadamente el 16% de las infecciones de tracto respiratorio, de un 18% de malaria y del 10% de enfermedades diarreicas. Las recomendaciones sobre la ingesta de Zn son de 8-11 mg/día para varones, 8-9 mg/día para mujeres, 11-12 mg/día durante la lactancia y 12-13 mg/día durante el embarazo (Ag, 2010).

Generalmente el Zn se ingiere a través de la dieta, por el consumo de alimentos de origen animal y se encuentra en altas concentraciones en carnes rojas, alimentos integrales y legumbres, su biodisponibilidad es variable entre 25-50 mg/kg. Por otro lado, la cantidades de Zn presentes en el pescado, tubérculos, verduras de hojas verdes y frutas es baja (menor de 10

mg/kg). El trigo, el centeno, la cebada y la avena se consideran como fuentes moderadas de Zn (Teclic y col., 2013). El análisis de 14 genotipos de trigo recogidos en Kazajistán, Kyrgyzstan and Tayikistán reveló concentraciones de Zn de entre 20-30 mg/kg. Por otro lado, según datos publicados por Teclic y col. (2013) el grano de arroz tiene una concentración media de Zn de 26,5 mg/kg. Otro dato llamativo del arroz es que las concentraciones de este elemento en el arroz varían con el genotipo llegando hasta un 53% de diferencias (Depar y col., 2011).

1.5.2.3. El Manganese

La deficiencia de Mn está bien descrita en animales tales como ratas donde se ha observado un aumento de prematuridad y mortalidad neonatal además de malformaciones congénitas en la descendencia. Sin embargo, en humanos no se ha relacionado directamente su deficiencia con ningún tipo de trastorno. Se sabe que es un catión divalente que actúa como cofactor de numerosas enzimas tales como glicosiltransferasas, galactotransferas y polimerasas que en estados deficitarios de Mn bajan su actividad provocando alteraciones en la síntesis de glicoproteínas y glicosaminoglicanos que son necesarios en la síntesis del cartílago desencadenando trastornos esqueléticos (Hambidge, 1985). A pesar de que los seres humanos solo absorben 1-10% de lo ingerido, y no se almacena sino que se elimina a través de las heces (McGuire, 2012) y las intoxicaciones son poco frecuentes, se han establecido ingestas seguras y adecuadas de Mn de 1,6-2,6 mg/día (Ag, 2010). La toxicidad afecta el sistema nervioso, los síntomas descritos son parecidos a la enfermedad de Parkinson. Las personas con problemas crónicos de riñón son extremadamente sensibles al Mn.

Las fuentes de Mn incluye la granos enteros (con el salvado) piña, nueces y legumbres, verduras de hojas verdes tales como las espinacas también suelen contener niveles altos de Mn. En un estudio llevado a cabo con 64 variedades de trigo, se observó que la concentración de Mn se encontraba entre 27-64 mg/kg siendo los niveles más altos los encontrados en la especie durum con una concentración media de 37,28 mg/kg (Harmankaya y col. 2012). En arroz nigeriano la concentración media de Mn fue de 278 mg/kg y un rango entre 104,3 y 419,5 mg/kg (Chukwuma, 1995). Un estudio llevado a cabo por Ishikawa y col. (2005) indicó que las concentraciones de Cd en las plantas se ven disminuidas por las

concentraciones de Zn y Mn evitando así la toxicidad de la planta derivada de la presencia de Cd (Ishikawa y col., 2005).

1.5.2.4. El Cobalto

Generalmente, el contenido corporal de cobalto (Co) es de 1-2 mg. El cobalto es un constituyente de la cobalamina, comúnmente conocida como la vitamina B₁₂. También es responsable de la producción de glóbulos rojos y es fundamental para el funcionamiento de algunos tipos de células, especialmente las de la médula ósea, el sistema nervioso y el tracto gastrointestinal (De la Guardia, 2015). Niveles elevados de Co pueden ser tóxicos afectando a la glándula tiroidea, así como causando dermatitis, cardiopatías y neutrotoxicidad. Por el contrario, niveles bajos dan lugar a la no formación de la vitamina B₁₂, ni la coenzima B₁₂ que subsecuentemente actúan sobre el ciclo de Krebs. Las recomendaciones para el Co se cifran en 0,7-1,3 mg/día (Ag, 2010). Este elemento se suele encontrar en abundancia en pescado (0,01 mg/kg), nueces (0,09 mg/kg), verduras de hojas verdes (0,009 mg/kg) y cereales (0,01 mg/kg). En particular, en el trigo se encuentra a concentraciones de 7-89 µg/kg y en el arroz a concentraciones de 10-20 µg/kg (Velisek y col., 2013). Hay que resaltar que la mayoría del Co que se ingiere es en forma de Co inorgánico.

1.5.2.5. El cobre

El Cu es un nutriente esencial necesario en la función de la mayoría de las enzimas. Los requerimientos de Cu son de unos 1-2 mg/día que se ingieren a través de la dieta, repartiéndose por todo el organismo donde hay un total de 100-150 mg, el esqueleto y el músculo contienen aproximadamente el 25% y 42% del total (Linder, 1969).

La deficiencia de Cu es rara y generalmente tiene lugar en niños prematuros que tienen bajos niveles de almacenamiento de Cu. Dicha deficiencia reduce la producción de glóbulos rojos y blancos, y una causa de anemia, problemas de fertilidad, pérdida de peso y de cabello, osteoporosis, mal funcionamiento del sistema inmune y la enfermedad de Menkes que es un caso extremo y raro de una mala absorción genética del Cu (Insel, 2013; Fujita y

col., 1989). Por otro lado, comparándolo con otros elementos se puede decir que el Cu no es tóxico ya que no se suele almacenar en el organismo, generalmente, tras la ingesta se absorbe en el intestino y se excreta rápidamente. También se puede dar la enfermedad de Wilson que es un trastorno genético donde el exceso de Cu no puede eliminarse del organismo, y se almacena en el hígado, cerebro, riñones y ojos. Las personas con este tipo de enfermedad suelen incluir en su dieta suplementos de Zn que inhiben la absorción de Cu, así como sus efectos tóxicos. En humanos, la absorción del Cu tiene lugar en el duodeno, entre el 55-75% del Cu se ingiere a través de los alimentos.

El Cu se encuentra presente en alimentos tales como la carne de cerdo (0,4-1,8 mg/kg), carne de ternera (0,6-1,8 mg/kg), pescado (0,2-3,1 mg/kg), queso (0,3-19 mg/kg), trigo (4,0-14 mg/kg), arroz (0,6-2,8 mg/kg), lentejas (5,8-8,9 mg/kg), pan (3,5 mg/kg), espinacas (0,6-1,7 mg/kg), tomates (0,4-1,0 mg/kg) o guisantes (1,9-2,4 mg/kg) (Velisek, 2013).

1.5.2.6. El Níquel

El níquel (Ni) tiene varias funciones biológicas tales como ser el centro catalítico de reacciones redox y non-redox, forma parte de enzimas, activar o inhibir la acción de otras enzimas, etc, pero su función no está claramente definida y hasta la fecha no se han descrito enfermedades relativas a la deficiencia de Ni. La exposición al Ni suele tener lugar por medio de agua potable aunque también puede darse intoxicación por inhalación de polvo y suelos. De hecho, se han dado casos de toxicidad por inhalación de Ni en trabajadores de la industria de este metal. Su forma química en los alimentos no se conoce, se suele medir como Ni total aunque se sabe que puede formar complejos orgánicos disminuyendo su biodisponibilidad. Los potenciales efectos perjudiciales del exceso de Ni sobre la salud son alergias, fibrosis pulmonar y envenenamiento del sistema cardiovascular. Se ha estimado que la exposición media en Europa suele ser de 70-250 µg/día, sin embargo, un estudio llevado a cabo en Italia indicó niveles medios de 360 µg/día.

El Ni se encuentra en una amplia variedad de alimentos, tales como las nueces (1,77 mg/kg), legumbres (0,18 mg/kg), trigo (0,05-0,89 mg/kg), arroz (0,1 mg/kg), lentejas (2,3-3,0

mg/kg), té negro (1,9-12 mg/kg), café (0,6-1.0 mg/kg) o la soja (2.0-10 mg/kg). Datos publicados sobre la ingesta diaria en Reino unido arrojaron valores medios de 0,13 mg/día de ni ingerido a través de los alimentos y 0,02-0,04 mg/día a través del agua (Velisek, 2013).

1.5.2.7. El Selenio

El Se es un elemento no metálico que se produce en la corteza terrestre, se encuentra en algunas rocas sedimentarias, rocas volcánicas y rocas carbonatadas (Sneddon, 2012). Por otro lado, es un elemento traza que forma parte de diversos procesos metabólicos y tiene efectos sobre la hormona tiroidea, sistema inmune y como antioxidante. Asimismo, forma parte de diferentes proteínas (selenoproteínas) de las cuales hasta la fecha se han identificado un total de 35 y cuyas funciones exactas no se conocen pero se sabe que protegen al organismo de daños oxidativos (cáncer y enfermedades cardiovasculares) (Hatfield y col., 2014). Por ello, se dice que el Se proporciona cierta protección contra estos procesos reduciendo el riesgo de cáncer, protegiendo al organismo de radicales libres y toxinas, ralentizando el proceso de envejecimiento y mejorando la inmunidad del organismo (Sneddon, 2012; Brown, 2001). La deficiencia de Se incluye alteraciones del metabolismo de la tiroides, alteración de la actividad de biotransformación de las enzimas y un aumento de la susceptibilidad por intoxicación con metales pesados. La enfermedad de Keshan (miocardiopatía endémica) y la enfermedad Kaschin-Beck (una osteoartropatía) se han asociado también a una deficiencia grave de Se. Por otro lado, altas concentraciones de Se pueden causar daños severos, algunos estudios han mostrado correlación entre el Se y diferentes tipos de cáncer, esclerosis cardiovascular y cirrosis hepática (Stults, 1981; Merzoug y col., 2009). Además de las enfermedades mencionadas, la intoxicación por Se produce pérdida de pelo, dermatitis y trastorno del ritmo cardíaco.

En general, el contenido de Se en el organismo es de 10-15 mg mientras que la ingesta diaria admisible es de 0,05-0,1 mg. Aproximadamente el 80% del Se orgánico es ingerido a través de los alimentos siendo mejor la absorción del Se vegetal. En los alimentos se puede encontrar de diversas formas, siendo la más frecuente la asociada al amino ácido metionina. Las mejores fuentes de este elemento son nueces, marisco y carnes aunque el agua y el ajo también pueden aportan pequeñas cantidades de Se. Por otro lado, la concentración en

granos de cereales depende de su concentración en el suelo donde se han cultivado dichos cereales (McGuire, 2012) variando entre 10 y 550 $\mu\text{g/kg}$ (Tamás y col., 2010; Lyons y col., 2005). Tal y como se dijo anteriormente, la biodisponibilidad del Se varía entre los diferentes alimentos, en el grano de trigo la biodisponibilidad es alta. En ensayos con ratones la mayor biodisponibilidad se vio en riñones de ternera (97%), trigo (83%), atún (57%) y setas (5%) (Douglas, 1981).

1.5.2.8. El Vanadio

El V (V) se encuentra naturalmente en la corteza terrestre y pasa al medio ambiente por acciones antropogénicas tales como la quema de petróleo, fuel, combustibles o carbón. Se suele emplear como indicador de contaminación humana de las aguas (Ensafi y col., 2008). Durante las últimas décadas, el V pasó de ser un elemento “levemente tóxico” a esencial achacándole propiedades antidiabéticas, anti-cancerígenas e inhibidor de las síntesis del colesterol. El interés comenzó al descubrir que era un elemento esencial en algunas especies marinas (Almedeida y col., 2001).

Aunque su concentración en los alimentos es muy baja, niveles de ultra-traza, la principal fuente de V es el marisco, en particular las ostras, donde se han llegado a medir concentraciones de 100 $\mu\text{g/kg}$, también se encuentra en cereales integrales, carne o pescado a concentraciones de 5-40 $\mu\text{g/kg}$ y en menor medida en leche, grasas, vegetales y frutas a concentraciones 1-5 $\mu\text{g/kg}$ (Velisek y col., 2013; Filik y col., 2012.) En concreto, alimentos ricos en V incluyen hongos, mariscos, semillas de eneldo, perejil y pimienta negra (Badmaev y col., 1999). En la mayoría de estos casos, las formas fisiológicamente relevantes de este elemento incluyen sulfato de vanadio, metavanadato sódico, ortovanadato sódico y pentóxido de vanadio.

1.6 LAS MICOTOXINAS

1.6.1. Generalidades de la micotoxinas

Las micotoxinas son toxinas producidas por hongos, son metabolitos secundarios que no tienen una función aparente en el metabolismo del hongo. La enfermedad X del pavo que tuvo lugar en Inglaterra, como más de 100000 pavos muertos, en 1962, dio lugar al inicio de las investigaciones sobre las micotoxinas en piensos y alimentos. Los pavos murieron por una toxina producida por el hongo *Aspergillus flavus* que recibió el nombre de aflatoxina (Nesbitt y col., 1962). Las micotoxinas tienen efectos diversos efectos sobre la salud, siendo siempre perjudiciales, los efectos dependen del tipo de micotoxina, la concentración, la ruta de exposición, la duración de la exposición, el modo de acción de la toxina, la especie animal, el sexo, la edad y el peso corporal. Hasta la fecha se han documentado más de 400 micotoxinas en todo el mundo y los pesos moleculares varían entre 50 y 500 Da (Betina, 1984). De todas la micotoxinas documentadas, a continuación se hace una breve descripción de aquella que han sido objetivo de estudio en este trabajo.

1.6.1.1. Aflatoxinas

El grupo de aflatoxinas es uno de los principales grupos de micotoxinas e incluye la aflatoxina B1, la B2, la G1 y la G2 (Figura 1.14). Estas sustancias son producidas principalmente por hongos *A. flavus* y *A. parasiticus* y su toxicidad es debida a que se unen al ADN interfiriendo en la síntesis de proteínas (Raisuddin, 1993). Las aflatoxinas han demostrado ser extremadamente potentes carcinógenos en todas las especies animales investigadas. Más recientemente, el Organismo Internacional para la Investigación sobre el Cáncer las clasificó en el Grupo Uno por ser carcinogénicas para los seres humanos (IARC, 2012).

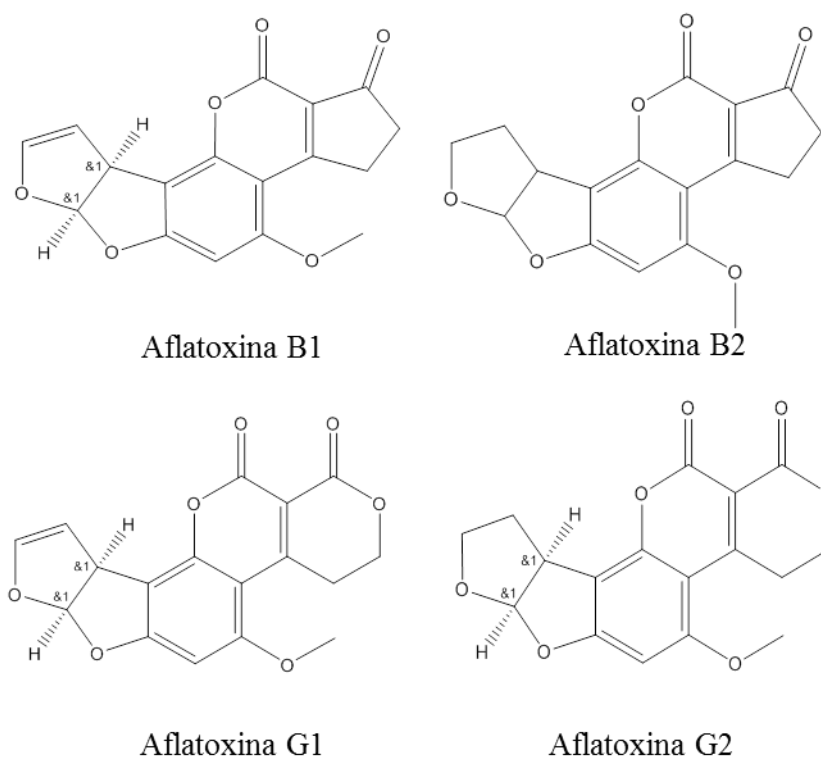


Figura 1.14. Fórmula estructural de la Aflatoxina

1.6.1.2. Fumonisinias

Las fumonisinas son producidas principalmente por hongos del género *Fusarium* (Marin y col., 2013). Hasta la fecha se conocen más de 12 fumonisinas análogas siendo las más comunes la fumonisina B1 y la B2. Su concentración en alimentos depende de la alcalinidad, de la cantidad de agua y de la temperatura. En cambio, en cultivos agrícolas su concentración depende de condiciones climáticas, latitud y del genotipo (Soriano y Dragacci, 2004). En los mamíferos los efectos tóxicos conocidos son que actúan como agente carcinogénico, hepatotóxico y son causantes de leucoencefalomalacia (Dutton, 1996, Kellerman y col., 1990).

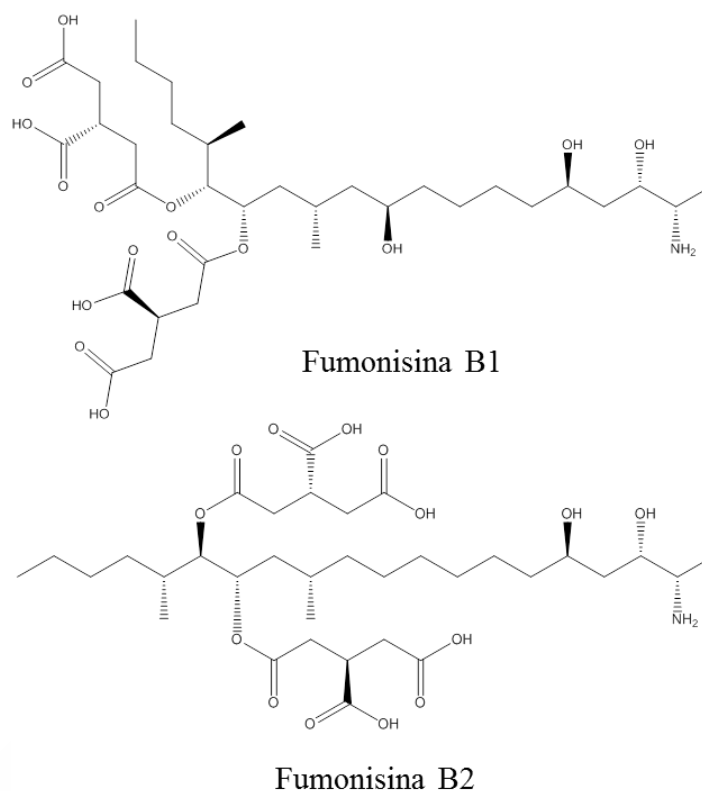


Figura 1.15. Fórmula estructural de la Fumonisin

1.6.1.3. Tricotecenos

Los tricotecenos son producidas por *Fusarium spp* (*F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. acuminatum* y *F. poae*) y por algunas especies de *Trichoderma* (Nielse y col., 2005; Azaiez, 2014). Son micotoxinas sesquiterpenoides que se dividen en cuatro grupos según sus grupos funcionales, suelen detectarse en alimentos e incluyen algunos de los inhibidores más potentes de la síntesis de proteínas eucarióticas, interfiriendo en las etapas de iniciación, alargamiento y terminación de las proteínas (D'mello y col., 1999, EMAN, 2003). El desoxinivalenol (Figura 1.16) es un tricoteceno comúnmente conocido como la vomitoxina, es producido principalmente por *Fusarium graminearum* y hongos patógenos de *Fusarium culmorum* que crecen en los cereales (Marin y col., 2013). Los efectos adversos descritos para el desoxinivalenol, después de una administración aguda, a corto y a largo plazo son disminución de la ingesta de alimentos (anorexia), disminución del aumento de peso, gastroenteritis, emesis (vómitos), cardiotoxicidad, teratogenicidad e inmunotoxicidad (Gray y Pestka, 2007; Pestka y Smolinski, 2005).

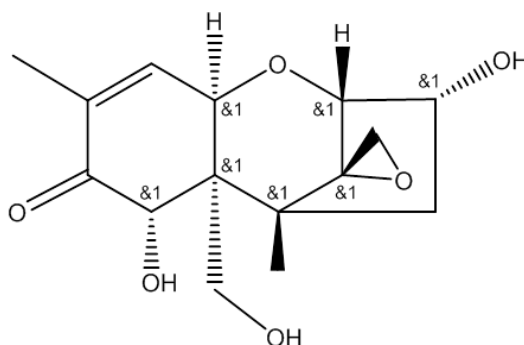


Figura 1.16. Fórmula estructural de desoxinivalenol

1.6.1.4. Zearalenona

La zearalenona era conocida anteriormente como toxina F-2, es una micotoxina estrogénica no esteroide que es biosintetizada por una variedad de hongos *Fusarium*, incluyendo *F. graminearum* (*Gibberella zeae*), *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. Equiseti*, *F. crookwellense* y *F. semitectum*, que son hongos comunes del suelo encontrados en países templados y cálidos (Bennett y Klich, 2003). Estos hongos contaminan el maíz y, en menor medida, la cebada, la avena, el trigo, el sorgo, el mijo y el arroz. Esta micotoxina se ha encontrado en alimentos y cereales de todo el mundo y se ha estimado que la exposición a través de la dieta está en el rango de 1-30 ng/kg peso corporal/día (Zinedine y col., 2007). Según datos publicados por el IARC se ha descrito que la zearalenona es responsable de causar alta incidencia de tumores pituitarios y hepatocelulares en ratones al ingerir la micotoxina a través de la dieta. Sin embargo, no se han demostrado que sea carcinogénico en humanos ni en animales (Pitt y col., 2012).

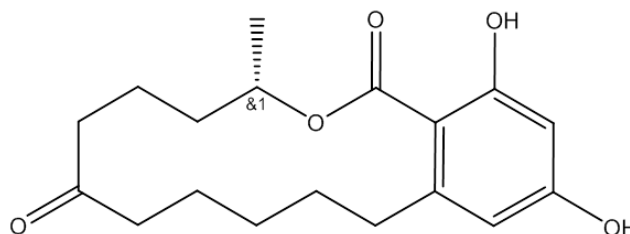


Figura 1.17. Fórmula estructural de Zearalenona

1.6.1.5. Ocratoxina A

La ocratoxina A (Figura 1.18), al igual que las micotoxinas mencionadas anteriormente, es un metabolito de diferentes especies de hongos, incluyendo *A. alliaceus*, *A. auricomus* y *Penicillium verrucosum* (Bayman y col., 2002; Larsen y col., 2001; Pitt, 1987).

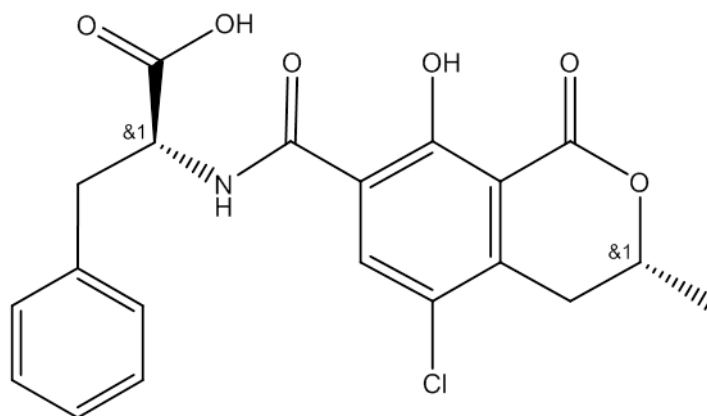


Figura 1.18. Fórmula estructural de Ocratoxina

La exposición humana a ocratoxina A ocurre principalmente en Europa y Canadá ya que es donde se consumen el mayor número de alimentos hechos con cebada y trigo que es donde mejor crece el *P. verrucosum*. También se puede encontrar ocratoxina en carne de animales que han sido alimentados con cereales contaminados. Tras ser ingerida se absorbe por el tracto gastrointestinal en mamíferos uniéndose a las proteínas plasmáticas (fundamentalmente a la albúmina) distribuyéndose predominantemente en el riñón, y a concentraciones menores en el hígado, músculo y grasa (Pfohl-Leskowicz y Manderville, 2007). Por otro lado, existen pocos datos sobre intoxicación por inhalación de ocratoxina. Al igual que para la zearalenona los efectos sobre la salud no están claramente definidos, hasta la fecha se le asocia nefropatía en todos los animales estudiados y muestra un comportamiento hepatotóxico, inmunosupresor y teratogénico (Beardall y Miller, 1994, Pléstina, 1996, Schlatter y col., 1996). Sin embargo, evidencias sobre su carcinogenicidad solo se ha publicado en experimentos con animales y los datos sobre el riesgo de sufrir cáncer debido al consumo de ocratoxina en humanos se han limitado a estudios descriptivos.

1.6.2 Alimentos en las que suelen detectarse las micotoxinas

Ya que la presencia de una determinada micotoxina depende de la presencia del hongo productor de la/s micotoxina/s y que el crecimiento del hongo a su vez es dependiente de la ubicación geográfica, el año de cosecha y el alimento. Se puede decir que hay determinadas zonas y alimentos que son más propensos a contener una determinada micotoxina. La Tabla 1.9 muestra la prevalencia de diferentes micotoxinas según el continente (Abrunhosa y col., 2012) y la Tabla 1.10 los alimentos en los que suelen aparecer (Pereira y col., 2014)

Tabla 1.8. Micotoxinas más comunes según zona geográfica

Localización	Micotoxina
Europa (Oeste)	Ocratoxina, Vomitoxina, Zearalenona
Europa (Este)	Zearalenona, Vomitoxina
América del Norte	Ocratoxina, Vomitoxina, Zearalenona, Aflatoxina
América del Sur	Aflatoxina, Fumonisina, Ocratoxina, Vomitoxina, Toxina T2
África	Aflatoxina, Fumonisina, Zearalenona
Asia	Aflatoxina
Australia	Aflatoxina, Fumonisina, lotirem alcalide

Fuente: Abrunhosa y col. (2012)

Tabla 1.9. Principales especies micotoxigénicas, alimentos afectados y micotoxinas que producen.

Especie	Alimento	Micotoxina
<i>A. carbonarius</i>	Uvas, uvas pasas	Ocratoxina
<i>A. flavus</i>	Frutos secos en general, cereales en general, café, oleaginosas	Aflatoxinas
<i>A. ochraceus</i>	Café, frutos secos en general	Ocratoxina
<i>A. parasiticus</i>	Cacahuetes	Aflatoxinas
<i>P. verrucosum</i>	Cereales, pastelería	Ocratoxina
<i>F. graminearum</i>	Cereales de grano pequeño	Deoxinivalenol, Zearalenona
<i>F. proliferatum</i>	Maíz	Fumonisin
<i>F. pseudograminearum</i>	Cereales de grano pequeño	Deoxinivalenol, Zearalenona
<i>F. verticillioides</i>	Maíz	Fumonisin

Fuente: Pereira y col. (2014)

1.6.3. Métodos comúnmente empleados para el análisis de micotoxinas

La metodología empleada para la determinación de micotoxinas es variada ya que depende de diversos factores tales como un muestreo adecuado, necesidad de tener límites de detección bajos ($\mu\text{g/kg}$ o ng/kg), determinación individual o colectiva, la matriz (materias primas, en piensos y en los alimentos). En la bibliografía científica se pueden encontrar numerosos métodos de análisis que varían en función de la matriz y de la micotoxina que se quiere analizar, diferentes autores han recopilado y recopilado y publicado revisiones bibliográficas sobre los diferentes métodos disponibles (Krska y col. 2008; Shephard y col., 2012; Maragos y col., 2010).

Entre toda la información disponible en la bibliografía se pueden diferenciar dos grupos de métodos; los de cribado y los confirmatorios. Los primeros, tal y como su nombre

indica, se emplean para hacer una criba de las muestras e identificar posibles positivos que posteriormente se confirmaran con métodos confirmatorios. Las técnicas de cribado más comunes son la cromatografía de capa fina (TLC) y los inmunoensayos (ELISA). Por otro lado, los métodos confirmatorios son más largos y tediosos pero permiten una detección selectiva y precisa. En general, los métodos confirmatorios tienen una serie de pasos en común: el muestreo, homogeneización, extracción, purificación y finalmente una separación y detección confirmativa. Entre los diferentes métodos de extracción que se aplican para el análisis de micotoxinas se encuentran extracción líquido-sólida que se basa en la extracción de los analitos de una matriz sólida, con ayuda de uno o varios disolventes. Posteriormente se realiza un paso de purificación del extracto para reducir al máximo las posibles interferencias con la matriz, la purificación se suele hacer con cartuchos de extracción en fase sólida usando en el caso concreto de micotoxinas columna de inmunohafinidad que permiten alcanzar límites de detección mucho más bajo. Más recientemente se han empleado QuEChERS (del inglés quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) para la extracción y purificación de micotoxinas ya que hacen posible la extracción de un mayor número de micotoxinas con propiedades químicas diferentes en matrices tales como el huevo (Frenich y col., 2011), trigo (Sospedra y col., 2010, Rodriguez-Carrasco y col., 2012) y arroz (Koesukwiwat y col., 2014; Arroyo-Manzanares y col., 2014). Por otro lado, las técnicas de análisis del extracto purificado más empleadas son cromatografía líquida de alto resolución (HPLC) o cromatografía de gases (GC) combinadas cada una de ellas con detectores tales como fluorescencia (FLD), ultravioleta (UV), ionización de llama (FID), captura electrónica (ECD) y espectrometría de masas (MS). Hay que resaltar que por la toxicidad de estas sustancias y los problemas que suponen para la salud en los últimos diez años se han ido desarrollando universalmente métodos que se basan fundamentalmente en la detección con espectrometría de masa en tándem que permite un análisis más selectivo y preciso que los métodos tradicionales. Además de identificar las micotoxinas de manera inequívoca se pueden emplear y patrones internos casi idénticos a las sustancias que se quieren identificar.

1.7. Bibliografía

Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, AS., Pereira, M. y Venâncio, A. (2012). Micotoxinas Detectadas En Productos Alimenticios En Portugal: Revisión. *Revista Bio Ciencias*, 2, 5-31.

Abugalieva, A. y Peña, R.J. (2010). Grain quality of spring and winter wheat of Kazakhstan. *The Asian and Australian Journal of Plant Science and Biotechnology* 4(Special Issue 1), 87–90.

Ag, H. (2010). Tratado de nutricion/Nutrition Treatise: Nutricion humana en el estado de salud. *Human Nutrition in Health Status*. Ed. Médica Panamericana, 8.

Alloway, B.J. (1990). Soil processes and the behavior of metals. *Heavy metals in soils*, 7-28.

Almeida, M., Filipea, S., Humanes, M., Maia, M.F., Melo, R., Severino, N.,...Wever, R. (2001). Vanadium haloperoxidases from brown algae of the Laminariaceae family. *Phytochemistry*, 57, 633–642.

Anke, M., Groppe, B. y Gle, M. (1994). Der Einfluss des Nutzungszeitpunktes auf den Mengen- und Spurenelement-gehalt des Griinfutters. *Das Wirtschaftseigene Futter*, 40, 304-319.

Anonimo. (2013). Production of Kazakh national Talkan dish launched. Recuperado de <https://en.tengrinews.kz/markets/Production-of-Kazakh-national-Talkan-dish-launched-24383/>.

Aranda, P., Llopis, J. (1993). Minerales. *Nutrición y Dietética, Aspectos Sanitarios*, 179-240.

Arroyo-Manzanares, N., Huertas-Pérez, J. F., García-Campaña, A. M., & Gámiz-Gracia, L. (2014). Simple methodology for the determination of mycotoxins in pseudocereals, spelt and rice. *Food Control*, 36, 94-101.

Azaiez, I. (2014). Mycotoxins in dried fruits. Decontamination procedures= Micotoxinas en frutas desecadas. Medidas de descontaminación (Tesis Doctoral). Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de l'Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal. Valencia.

Badmaev, V., Prakash, S., Majeed, M. (1999). Vanadium: a review of its potential role in the fight against diabetes. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 5, 273-291.

Bayman, P., Baker, J.L., Doster, M.A., Michailides, T.J. y Mahoney, N.E. (2002). Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Applied Environmental Microbiology*, 68, 2326-2329.

Beardall, J.M., Miller, J.D. y Trenholm, H.L. (1994). Diseases in humans with mycotoxins as possible causes. Mycotoxins in grain: compounds other than aflatoxin. 487-539.

Becerra (2015) Boletín INIA N° 306. Año 2015 Editores: Mario Paredes C., Ingeniero Agrónomo, M. Sc., Ph.D., Coordinador Programa de Arroz, INIA Quilamapu; Viviana Becerra V., Ingeniero.

Bennett, J.W., Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 497-516.

Betina,V. (1984). Mycotoxins. Production, isolation, separation and purification. Amsterdam:Elsevier.

Bohn, H.L., McNeal, B.L., O'Connor (1985). Soil Chemistry. John Wiley and Sons. New York

Borodulin, D.M., Shulbaeva, M.T., Musina, O.N. y Ivanets, V.N. (2014). Barley as a promising component of the milk-cereal products (Ячмень как перспективный компонент молочно-злаковых продуктов). Technique and technology of food production (Техника и технология пищевых производств), 4, 19-25 (en ruso).

Bowden, P., Edwards, J., Ferguson N., McNee T., Manning B., Roberts, K., ...Wilkins, J. (2007). Wheat growth and development. New South Wales: NSW Department of Primary Industries. Recuperado de http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0008/516185/Procrop-wheat-growth-and-development.pdf

Brimer, L. (2011). Chemical food safety. Copenhagen: CABI.

Brown, K.M. y Arthur, J.R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public health nutrition*, 4, 593-599.

Brummel, P. (2011). Kazakhstan. Chalfont St Peter, Bucks. Bradt Travel Guides.

Buachoon, N. (2014). Heavy Metal Contamination in Soil and Plant samples by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. *International Journal of Chemical, Environmental and Biological Sciences*, 2, 197-200.

Camean, A. (1995). *Toxicología avanzada*. Ediciones Díaz de Santos.

Cañizares-Villanueva R.O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42, 131-143.

Chukwuma, C. (1995). Evaluating baseline data for copper, manganese, nickel and zinc in rice, yam, cassava and guinea grass from cultivated soils in Nigeria. *Agriculture, ecosystems and environment*, 53, 47-61.

D'mello, J.P.F., Placinta, C.M., Macdonald, A.M.C. (1999). Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal feed science and technology*, 80(3), 183-205.

Damluji S F. y Tikriti, S. (1972). Mercury Poisoning from Wheat. *British Medical Journal*, 1, 804.

De la Guardia, M., Garrigues, S. (2015). Handbook of mineral elements in food. John Wiley and Sons.

Depar, N., Rajpar I., Memon M.Y., Imtiaz M. y Zia-ul- Hassan. (2011). Mineral nutrient densities in some domestic and exotic rice genotypes. *Pakistan Journal of Agriculture, Agricultural Engineering and Veterinary Sciences*, 27, 134-142

Douglass, J.S., Morris, V.A., Soares JH.Jr. y Levander, O.A. (1981). Nutritional Availability to Rats of Selenium in Tuna, Beef Kidney, and Wheat. *Journal of Nutrition*, 111, 2180-2187.

Dutton, M.F. (1996). Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: their nature and their effects. *Pharmacology and therapeutics*, 70, 137-161.

EFSA (2010). European Food Safety Authority. Scientific opinion on lead in food. EFSA Panel on contaminants in the food chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 8(4), 1570.

EFSA (2011). European Food Safety Authority. Statement on tolerable weekly intake for cadmium. Scientific Opinion of the panel on contaminants in the food chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 9.

EMAN (2003). European Mycotoxin Awareness Network co-ordinated by Leatherhead Food Research Association (UK). <http://www.lfra.co.uk/eman/index.htm>.

Ensafi, A.A, Khayamian, T, y Khaloo S.S. (2008) *International Journal of Food Science and Technology*, 43:416.

EU Rice Economic Fact Sheet. (2015). European Commission Directorate-General for agriculture and rural development. Recuperado de https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/cereals/trade/rice/economic-fact-sheet_en.pdf

Fangmin, C., Ningchun, Z., Haiming, X., Yi, L., Wenfang, Z., Zhiwei, Z. y Mingxue, C. (2006). Cadmium and lead contamination in japonica rice grains and its variation among the different locations in southeast China. *Science of the Total Environment*, 359(1-3), 156-166.

FAO (2003). Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). Rice consumption (Потребление риса). Recuperado de http://chinalist.ru/facts/viewyears.php?p_lang=0&p_country=112&p_param=1055

FAO (2014). Food and Agricultural Organization of the United Nations. Food Outlook Biannual Report on Global Food Markets. October 2014. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i4136e.pdf>

FAO (2016). Food and Agricultural Organization of the United Nations. Food Outlook Biannual Report on Global Food Markets. June 2016. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-I5703E.pdf>

FAO/WHO (2016). Codex Alimentarius. Joint FAO/WHO, Food Standards Programme Codex Committee On Contaminants In Foods. Tenth Session, Rotterdam, The Netherlands, 4-8 April 2016 Draft maximum level for inorganic arsenic in husked rice (at Step 7)

FAOSTAT (2017). Departamento de Estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/CC>

Feng, X., Li, P., Qiu, G., Wang, S., Li, G., Shang, L., Fu, X. (2008). Human Exposure To Methylmercury through Rice Intake in Mercury Mining Areas, Guizhou Province, China. Environmental Science and Technology, 42, 326-332.

Fernández, A.M.C. y Jiménez, M.R. (2012). Toxicología alimentaria. Ediciones Díaz de Santos.

Filik, H. y Aksu, D. (2012). Determination of vanadium in food samples by cloud point extraction and graphite furnace atomic absorption spectroscopy. Food analytical methods, 5, 359-365.

Frenich, A.G., Romero-González, R., Gómez-Pérez, M.L. y Vidal, J.L.M. (2011). Multi-mycotoxin analysis in eggs using a QuEChERS-based extraction procedure and ultra-

high-pressure liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218, 4349-4356.

Fujita, M., Itakura, T., Takagi, Y., Okada, A. (1989). Copper deficiency during total parenteral nutrition: clinical analysis of three cases. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 13, 421-425.

Gerard, L.M. (1998). Genotype and Nitrogen Fertilizer Influence on Grain Yield and Protein Content of Wheat (*Triticum aestivum* L). (Master's Thesis). University of Zambia, Lusaka.

González-Weller, D., Rubio, C., Gutiérrez, Á.J., González, G.L., Mesa, J.M.C., Gironés, C.R., Ojeda B.A., Hardisson, A. (2013). Dietary intake of barium, bismuth, chromium, lithium, and strontium in a Spanish population (Canary Islands, Spain). *Food and chemical toxicology*, 62, 856-868.

Goyer, R.A. y Clarkson, T.W. (2001). Toxic Effects of Metals. Curtis D. Klaassen (Ed) Cassarett and Doulls Toxicologi. The Basic Science of Poisons.

Gray, J.S., Pestka, J.J. (2007). Transcriptional regulation of deoxynivalenol-induced IL-8 expression in human monocytes. *Toxicological sciences*, 99, 502-511.

Hambidge, K.M. (1985). Trace elements in human nutrition. *Nutrition in Pediatrics. Basic Science and Clinical Applications*, 7-45.

Harmankaya, M., Özcan M.M. y Gezgin, S. (2012). Variation of heavy metal and micro and macro element concentrations of bread and durum wheats and their relationship in grain of Turkish wheat cultivars. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(9), 5511–5521.

Hatfield, D.L., Tsuji, P.A., Carlson, B.A. y Gladyshev, V.N. (2014). Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health, and development. *Trends in biochemical sciences*, 39, 112-120.

Hoseney, R.C. (1986). Structure of cereals. Principles of cereal science and technology. A general reference on cereal foods. Saint Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists.

Hummel, M., Standl, E., Schnell, O. (2007). Chromium in metabolic and cardiovascular disease. Hormone and metabolic research, 39, 743-751.

IARC (2012). International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: chemical agents and related occupations. International Agency for Research on Cancer, 100F, 225–248 Lyon.

Insel, P., Ross, D. y McMahon, K. (2013). Discovering nutrition. Burlington: Jones and Bartlett Publishers.

Institute of Medicine. (2001). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Food and Nutrition Board. Washington: DC: National Academy Press.

Ishikawa, S., Ae, N., Sugiyama, M., Murakami, M., & Arao, T. (2005). Genotypic variation in shoot cadmium concentration in rice and soybean in soils with different levels of cadmium contamination. Soil Science and Plant Nutrition, 51, 101-108.

Jafarnejadi, A.R., Homaei, M., Sayyad, Gh. y Bybordi, M. (2010). Correlating accumulated cadmium and soil characteristics in wheat farm grain. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World, Brisbane, Australia.

Juliano, B.O. y Villareal, C.P. (1993). Grain quality evaluation of world rices. Manila: International Rice Research Institute.

Juliano, B.O.; Bechtel, D.B (1985). The Rice Grain and Its Gross Composition. In Rice Chemistry and Technology, Juliano, B.O., Ed.; American Association of Cereal Chemists: Eagan, MN, USA.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1984). Trace elements in soils and plants, 315. Boca Raton: CRC press.

Katz, S.A., Salem, H. (1993). The toxicology of chromium with respect to its chemical speciation: a review. *Journal of Applied Toxicology*, 13, 217-224.

Kaznex Invest (2014). JSC "National Agency for Export and Investment «Kaznex Invest» (АО «Национальное агентство по экспорту и инвестициям «Kaznex Invest»). (2014). Analysis of External Trade Kazakhstan for 9 months of 2014 (Анализ состояния внешней торговли РК за 9 месяцев 2014 года). Recuperado de http://www.kaznexinvest.kz/napr/analytics/export/trade/analiz_vneshn_torgovli_RK_za_9mes14.pdf (en ruso).

Kaznex Invest (2010). JSC "National Agency for Export and Investment «Kaznex Invest» (АО «Национальное агентство по экспорту и инвестициям «Kaznex Invest»). (2010). Brief Analysis of "Identification of Potential Markets for promotion to external markets of products in Unlimited Partnership "Abzal and K." (Бриф-Анализ «Определение потенциальных рынков для продвижения на внешние рынки продукции ПК «Абзал и К.»). Recuperado de http://www.kaznexinvest.kz/napr/analytics/export/brief/abzalico_10.pdf (en ruso)

Kellerman, T.S., Marasas, W.F, Thiel, P.G., Gelderblom, W.C., Cawood, M. y Coetzer, J.A. (1990). Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B1. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 57, 269-275.

Kim, M., Wolt J.D. (2011). Probabilistic risk assessment of dietary cadmium in the South Korean population. *Food Additives and Contaminants*, 28(1), 62–70.

Koesukwiwat U., Sanguankaew, K. y Leepipatpiboon, N. (2014). Evaluation of a modified QuEChERS method for analysis of mycotoxins in rice. *Food chemistry*, 153, 44-51.

Krska, R., Schubert-Ullrich, P., Molinelli, A., Sulyok, M., MacDonald, S. y Crews, C. (2008). Mycotoxin analysis: an update. *Food additives and contaminants*, 25, 152-163.

Kuzembayeva G.K. (2010). The improvement of the preparation technology of national food concentrate "Jent" (Ұлттық жармалық тағам концентраты "Жент" дайындау технологиясын жетілдіру) (Doctoral tesis). Almaty Technological University, Almaty (in Kazakh).

Laroche, L. E. A., Henner, P., Camilleri, V., Morello, M., Garnier-Laplace, J. (2005). Root uptake of uranium by a higher plant model (*Phaseolus vulgaris*)-bioavailability from soil solution. *Radioprotection*, 40, S33-S39.

Larsen, T. O., Svendsen, A., & Smedsgaard, J. (2001). Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3630-3635.

Lendinez, E., Lorenzo, M.L., Cabrera, C. y López, M. C. (2001). Chromium in basic foods of the Spanish diet: seafood, cereals, vegetables, olive oils and dairy products. *Science of the Total Environment*, 278, 183-189.

León, A.E., Rosell, C.M. (2007). De tales harinas, tales panes. *Baéz ediciones. Argentina*.

León, J. (1968). Fundamentos Botánicos de los cultivos tropicales. Lima: editorial IICA.

Linder, M.C., Hazegh-Azam, M. (1996). Copper biochemistry and molecular biology. *The American journal of clinical nutrition*, 63, 797S-811S.

Liu, J., Li, K., Xu, J., Zhang, Z., Ma, T., Lu, X., Yang, J. y Zhu, Q. (2003). Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. *Plant Science*, 165(4), 793-802.

Lyons, G., Ortiz-Monasterio, I., Stangoulis, J. y Graham, R. (2005). Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? *Plant and Soil*, 269, 369-380.

Mansour, R.S. (2014). The pollution of tree leaves with heavy metal in Syria. *International Journal of ChemTech Research*, 6, 2283-2290.

MAPAMA (2012). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. II. Actividades del Ministerio durante 2012. Recuperado de

http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/servicios/publicaciones/12-II-H-Agricultura_tcm7-286717.pdf

Maragos, C. M., y Busman, M. (2010). Rapid and advanced tools for mycotoxin analysis: a review. *Food Additives and Contaminants*, 27, 688-700.

Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G. y Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237.

Mazzocchi, M., Capacci, S., Shankar, B. y Traill, B. (2014). Agri-Food Systems for Better Nutrition in Europe and Central Asia. Recuperado de http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/Europe/documents/Publications/Policy_Studies/Agr_iFoodSys_en.pdf

McGuire, M. y Beerman, K. A. (2012). *Nutritional Sciences: from fundamentals to food*. Cengage Learning.

McLaughlin, M.J., Parker, D.R. y Clarke, J.M. (1999). Metals and micronutrients-food safety issues. *Field Crops Research*, 60, 143-163.

Melo, V., Cuamatzi, O. (2007). *Bioquímica de los procesos metabólicos*. Reverté.

Merzoug A.N. y Merazig H. (2009). Selenium Plasma Levels in a Healthy Population in Algeria. Recuperado de <http://www.jeaconf.org/UploadedFiles/Document/4ab72c24-f833-4687-bd34-18de1329936e.pdf>

MAGRAMA (2014). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Superficie en has dedicada a la producción de semillas certificadas en España por especies y C.C.A.A. Recuperado de http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/estadisticas/SUPERFICIE_PRODUCCI%C3%93N_SEMILLAS,_Espa%C3%B1a_2014_POR_ESPECIES_Y_CATEGORIAS_tcm7-352588.pdf

Mohanty, S. (2013). Trends in global rice consumption. *Rice Today*, 12, 44-45.

Mongush, L.K. y Namzalov, B.B. (2013). Ethnobotanical aspects of the culture of millet in Tuva: Features of cultivation and use in traditional cuisine (О некоторых этноботанических аспектах культуры проса в Туве: Особенности возделывания и традиции использования в пищу). Bulletin of the Tuva State University. Natural and Agricultural Sciences (Вестник Тувинского Государственного университета. Естественные и сельскохозяйственные науки), 2, 38-47 (en ruso).

Moreno, I., Ramírez, A., Plana, R. y Iglesias, L. (2001). El cultivo del trigo. Algunos resultados de su producción en Cuba. Cultivos Tropicales, 22, 55-67.

Morgounov, A., Gomez-Becerra, H.F., Abugalieva, A., Dzhunusova. Mira., Yessimbekova M., Muminjanov, H., Zelenskiy, Y., Ozturk, L., Cakmak, I. (2007). Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia, [Euphytica](#), 155(1), 193-203.

Mosbaek, H., Tjell, J.C. y Sevel, T. (1988). Plant uptake of airborne mercury in background areas. Chemosphere, 17, 1227-1236.

Motarjemi, Y. (2013). Encyclopedia of food safety. New York, Academic Press

Müller, R., Anke, M., Betz, I., Witte, H., Schilling, C. y Knoth, E. (2010). Uranium transfer in the food chain from soil to plants, animals and man. Proceedings of the 30 Scientific symposium of industrial toxicology, Slovakia.

Muthayya, S., Sugimoto, J.D., Montgomery, S. y Maberly, G.F. (2014). An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. Annuals of the New York Academy of Sciences, 1324, 7–14. doi: 10.1111/nyas.12540

Nakamura, K., Sakamoto, M., Uchiyama, H., Yagi, O. (1990). Organomercurial-volatilizing bacteria in the mercury-polluted sediment of Minamata Bay, Japan. Applied and environmental microbiology, 56, 304-305.

Nardi, E.P., Evangelista, F.S., Tormen, L., Saint Pierre, T.D., Curtius, A.J. y De Souza S.S. (2009). The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for

the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chemistry*, 112, 727-732

Nasreddine, L., Parent-Massin, D. (2002). Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry?. *Toxicology letters*, 127, 29-41.

Nation Master (2017). Countries Compared by Agriculture > Grains > Wheat > Consumption. International Statistics at NationMaster.com", United States Department of Agriculture. Aggregates compiled by Nation Master. Recuperado de <http://www.nationmaster.com/country-info/stats/Agriculture/Grains/Wheat/Consumption>

Nesbitt, B.F., O'Kelly, J., Sargeant, K., Sheridan, A. (1962). Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. *Nature*, London, 195, 1062-1063.

Nielsen, K. F., Gräfenhan, T., Zafari, D., Thrane, U. (2005). Trichothecene production by *Trichoderma brevicompactum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 8190-8196.

OECD (2004). Organization for Economic Co-operation and Development. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 10 Consensus document on compositional considerations for new varieties of rice (*Oryza Sativa*): key food and feed nutrients and anti-nutrients (ENV/JM/MONO(2004)15). Recuperado de <https://www.oecd.org/science/biotrack/46815226.pdf>

OECD-FAO Agricultural Outlook (2006-2015). Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Recuperado de <http://www.euroqualityfiles.net/Documents%20EUAM%20and%20CEECAP/Europe/Future%20policy/37038911.pdf>

Ohno, K., Yanase, T., Matsuo, Y., Kimura, T., Rahman, M.H., Magara, Y. y Matsui, Y. (2007). Arsenic intake via water and food by a population living in an arsenic-affected area of Bangladesh, *Science of the Total Environment*, 381, 68-76.

Oka, H.I. (2012). Origin of cultivated rice, 14, Elsevier.

Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. y Sharma, A. (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 52(3), 199-223.

Pereira, V.L., Fernandes, J.O. y Cunha S.C. (2014) Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 36, 96-136.

Pestka, J.J., Smolinski, A. T. (2005). Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 8, 39-69.

Pfohl-Leszkowicz, A. y Manderville, R.A. (2007). Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(1), 61-99.

Picó, Y. (2015). *Advanced mass spectrometry for food safety and quality* (Vol. 68). Elsevier.

Pincioli, M. (2010). *Proteínas de arroz propiedades estructurales y funcionales*. (Tesis de maestría). Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Argentina.

Pitt, J.I. (1987). *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, and production of ochratoxin A. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 266-269.

Pitt, J.I., Wild, C.P., Gelderblom, W., Miller, J., Riley, R., Wu, F., y Bann, R. (2012). Improving public health through mycotoxin control. *World Health*, 158, 162.

Pivić, R.N., Sebić, A.B.S. y Jošić, D.L. (2013). Assessment of Soil and Plant Contamination by Select Heavy Metals a long a Major European Highway. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22, 1465-1472.

Plestina, R. (1996). Nephrotoxicity of ochratoxin A. *Food additives and contaminants*, 13, 49.

Qian, Y., Chen, C., Zhang, Q., Li, Y., Chen, Z. y Li, M. (2010). Concentrations of cadmium, lead, mercury and arsenic in Chinese market milled rice and associated population health risk. *Food Control*, 21(12), 1757-1763.

Qiu G., Feng X., Li, P., Wang S., Li G., Shang L. y Fu, X. (2008). Methylmercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) grown at abandoned mercury mines in Guizhou, China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2465-2468.

Rafiq, N., Maqsood, Z.T. y Parveen, Z. (2006). Lead and Cadmium in Wheat Grain. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 76, 1044-1052.

Rahman, M.A., Hasegawa, H., Rahman, M.A., Rahman, M.M., Miah, M.A. (2006). Influence of cooking method on arsenic retention in cooked rice related to dietary exposure. *Environmental Science of The Total Environment*, 370, 51–60.

Raisuddin, S., Singh, K.P., Zaidi, S.I., Paul, B.N. y Ray, P.K. (1993). Immunosuppressive effects of aflatoxin in growing rats. *Mycopathologia*, 124, 189-194.

Ricepedia. (2017) This site is maintained by the International Rice Research Institute, Africa Rice and the International Center for Tropical Agriculture. Recuperado de <http://ricepedia.org/rice-around-the-world/europ>.

Rodríguez-Carrasco, Y., Berrada, H., Font, G. y Mañes, J. (2012). Multi-mycotoxin analysis in wheat semolina using an acetonitrile-based extraction procedure and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1270, 28-40.

Rothenberg, S.E., Feng, X., Dong, B., Shang, L., Yin, R., Yuan, X. (2011). Characterization of mercury species in brown and white rice (*Oryza sativa* L.) grown in water-saving paddies. *Environmental Pollution*, 159, 1283-1289.

Schlatter, C.H., Studer-Rohr, J. y Rasonyi, T.H. (1996). Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*, 13, 43-44.

Segizbayuli, K.S. (2011). Дән (Grain). Алматы Ақшамы, 6, 24-25 (in Kazakh).

Semon, M., Nielsen, R., Jones, M.P. y McCouch S.R. (2005). The Population Structure of African Cultivated Rice *Oryza glaberrima* (Steud.): Evidence for Elevated Levels of Linkage Disequilibrium Caused by Admixture with *O. sativa* and Ecological Adaptation. *Genetics*, 169(3), 1639–1647.

Sengupta, M.K., Hossain, M.A., Mukherjee, A., Ahamed, S., Das, B., Nayak, B., Pal, A. y Chakraborti, D. (2006). Arsenic burden of cooked rice: Traditional and modern methods. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1823-1829.

Shephard, G., Berthiller, F., Burdaspal, P. A., Crews, C., Jonker, M. A., Krska, R., ... y Solfrizzo, M. (2012). Developments in mycotoxin analysis: an update for 2010-2011. *World Mycotoxin Journal*, 5, 3-30.

Sigarev, M.I., Kizatova, M.Z., Esaidar, U.S. y Beimbetova, A.E. (2013). Grain Production Economy in Kazakhstan. *World Applied Sciences Journal*, 26, 322-327.

Sneddon, A. (2012). Selenium nutrition and its impact on health, Recuperado de https://www.abdn.ac.uk/rowett/documents/selenium_and_health_august_2012.pdf

Soriano, J.M. y Dragacci, S. (2004). Occurrence of fumonisins in foods. *Food Research International*, 37, 985-1000.

Sospedra, I., Blesa, J., Soriano, J. M., y Mañes, J. (2010). Use of the modified quick easy cheap effective rugged and safe sample preparation approach for the simultaneous analysis of type A-and B-trichothecenes in wheat flour. *Journal of Chromatography A*, 1217, 1437-1440.

Sparvoli F. (2012). Iron biofortification in bean: is the *lpa1* mutant a good candidate? Food and Agriculture COST Action FA0905 Mineral-improved crop production for healthy food and feed Workshop: “Improving the composition of plant foods for better mineral nutrition”. ETH Zurich, LFW Building, Zurich, Switzerland.

Stults, V.J. (1981). Nutritional hazard. In food Safety. H.R. Robert. John Wiley and Sons, New York.

Takahashi, N. y Tsunoda, S. (1984). Biology of rice. Tokyo, Japan Scientific Societies Press.

Tamás, M., Mandoki, Z.S., Csapó, J. (2010). The role of selenium content of wheat in the human nutrition. A literature review. *Acta Univ Sapientiae, Alimentaria*, 3, 5-34.

Tarasovskaya, N.E. y Dzhakova G.E. (2012). Plants of North Kazakhstan in sports nutrition and recovery malnourished patients (Растения Северного Казахстана в спортивном питании и восстановлении истощенных больных). *Biological Sciences of Kazakhstan (Биологические науки Казахстана)*, 1, 38-46 (en Ruso).

Teklic, T., Loncari, Z., Kovacevi, V. y Singh, B.R. (2013). Metallic trace elements in cereal grain - a review: how much metal do we eat? *Food and Energy Security*, 2, 81-95.

Tleppayev, A.M. (2013). Analiz otrasli rastenievodstva. Recuperado de http://www.analitika.kz/images/Akmaral/agro_sector_report_2013.pdf

Trade EU (2012). European Commission Trade. Classifying rice. Recuperado de http://trade.ec.europa.eu/doclib/cfm/doclib_results.cfm?key=Clasificaci%C3%B3n%20del%20arroz&opt=2&dis=20&lan=all&ty=&sta=1&en=20&page=1&year1=&year2=§or=all&country=all&langId=EN.

Tsuda, T., Babazono, A., Ogawa, T., Hamada, H., Mino, Y., Aoyama, H. y Inomata, S. (1992). Inorganic arsenic: A dangerous enigma for mankind. *Applied organometallic chemistry*, 6, 309-322.

Urtasun, B.P. (2012). Efecto del tratamiento de altas presiones sobre la calidad de cocción del arroz (*Oryza sativa* L., cultivar maratelli). Thesis doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Pública de Navarra, Navarra, España

Valderas, J., Mejías, M. E., Riquelme, J., Aedo, K., Aros, S., y Barrera, F. (2013). Intoxicación familiar por mercurio elemental: Caso clínico. *Revista chilena de pediatría*, 84, 72-79.

Velisek, J. (2013). The chemistry of food. John Wiley and Sons.

Viñas, P., Pardo-Martínez, M., López-García, I., Hernández-Córdoba, M. (2001). Determination of mercury in baby food and seafood samples using electrothermal atomic absorption spectrometry and slurry atomization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16, 633-637.

WHO (2000). World Health Organization. Safety Evaluation Of Certain Food Additives And Contaminants, WHO Food Additives Series: 44. Recuperado de <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44jec12.htm>.

WHO (2010). World Health Organization. Strontium and strontium compounds, Concise International Chemical Assessment Document 77. Recuperado de <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad77.pdf>

Wierzbicka, M. y Antosiewicz, D. (1993). How lead can easily enter the food chain-a study of plant roots. *Science of the total environment*, 134, 423-429.

Williams P.N., Feldmann J., Meharg, A.A., Price, A.H., Raab, A. y Hossain S.A. (2005). Variation in Arsenic Speciation and Concentration in Paddy Rice Related to Dietary Exposure. *Environmental Science and Technology*, 39, 5531-5540.

Wojciechowska-Mazurek, M. Zawadzka, T. Karlowski, K. Cwiek-Ludwicka, K. y Brulinska-Ostrowska, E. (1995). Content of lead, cadmium, mercury, zinc and copper in fruit from various regions of Poland. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 46, 223-238.

Zhailibay, K.N. (2006). Rice agriculture and ecology (Құрш егіншілігі және экология). Almaty: Arna (in Kazakh).

Zhang, H., Feng, X., Larssen, T., Qiu, G., Vogt, R.D. (2010). In inland China, rice, rather than fish is the major pathway for MeHg exposure. *Environmental health Perspectives*, 118, 1183-1188.

Zhao, F.J., Adams, M.L., Dumont, C., McGrath, S.P., Chaudri, A.M., Nicholson, F.A., Chambers, B.J. y Sinclair, A.H. (2004). Factors affecting the concentrations of lead in British wheat and barley grain. *Environmental Pollution*, 131(3), 461-468.

Zharkeev, M.K. (2011). Development of a national cereal products technology (Разработка технологии национального крупяного продукта). (Tesis doctoral).

Zinedine, A., Soriano, J.M., Moltó, J.C. y Mañes, J. (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. Food Chemical Toxicology, 45, 1–18.

Zuniga, R. J., (2007). Trigo blanco, Valor Nutricional y Potencial. Recuperado de <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR34251.pdf>





Capítulo 2: Objetivos





OBJETIVOS

Kazajistán es un país que se sitúa en su mayoría en Asia y que posee una gran cantidad de recursos naturales, de industrias, centrales nucleares y pozos petrolíferos. Sin embargo, existen muy pocos datos en la bibliografía científica internacional sobre este vasto país. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo ha sido conocer la concentración de diferentes elementos tóxicos en cereales que se cultivan en Kazajistán. Además, se evaluará el posible riesgo para la población kazaja derivado del consumo de dichos cereales.

Un segundo objetivo ha sido estudiar la presencia de diferentes micotoxinas en cereales de Kazajistán, en particular, en un plato tradicional del país, el cual se denomina Talkan. Dicho plato se elabora a partir de diferentes cereales (trigo, maíz, mijo, cebada) que son tostados y molidos. Asimismo, se pretende estimar el posible peligro para la salud de los kazajos como consecuencia del consumo de este plato tradicional





Capítulo 3: Investigación de la contaminación en arroz en Kazajistán y la EU





3.1 Introducción

El arroz es el alimento básico dominante para más de la mitad de la población del mundo, especialmente en los países asiáticos en vías de desarrollo, contribuyendo a más del 70 % de la energía proporcionada por la ingesta diaria de alimentos (Qian et al., 2010). De acuerdo con los datos de mercado de cereales de Kazajistán, el 53% del consumo total de cereales consiste en arroz, entre otros tipos de cereales y exceptuando trigo. Los residentes de Kazajistán consumen aproximadamente 7 kg de arroz por persona y año (Good Creative Marketing PR, 2010). La provincia de Kyzylorda es la principal región de cultivo de arroz de Kazajistán, produciendo el 90% del total de arroz (Temen, 2011). Kyzylorda tiene recursos minerales significativos, tales como Zn, Pb, U, V, así como gas y petróleo. Además, hay un total de ciento veinticinco empresas de extracción de oro, titanio, V y proveedores de shungi (mineral negro, lustroso, no cristalino que consiste un 98% de carbono) (Temen, 2011). Estas actividades mineras tienen sin duda un efecto en relación al aumento de la dispersión de elementos tóxicos en la zona. La presencia de elementos tales como el Cd, Cu, Pb, Zn en muestra de suelo y agua de Kyzylorda ya ha sido publicado (Berdenkulova, 2008). Por otro lado, el arroz se cultiva mediante sistemas de inundación y podría acumular As debido a la alta movilidad de este elemento en estas condiciones (Liang y col., 2010). Williams y col. (2007) observaron que la transferencia de As del suelo hacia el grano fue mayor en el arroz que en el trigo o la cebada, llegando a niveles basales de As en arroz diez veces superiores que en trigo (Williams y col., 2007). Erdinger y col (2004) señalaron que algunos compuestos de As orgánico seguramente han sido empleados como pesticidas en la antigua Unión Soviética para campos de algodón y huertos situados en el sur Kazajistán y Uzbekistán (Erdinger y col., 2004). Más recientemente, estudios llevados a cabo en la localidad de Aralsk (en la Provincia de Kyzylorda) han dado informado de la detección de As en el suelo con una media de concentración de 6,7 mg/kg (Musabekov y col., 2009).

Hay que señalar que los arrozales de Provincia de Kyzylorda se encuentra a orillas del Río Syr Darya, río que ha sido clasificado como “modernamente contaminado” por la presencia de contaminantes tales Mg, Cu, sulfatos, nitritos, productos del petróleo, fenoles y pesticidas durante 2006 y 2008 (Askarova y col., 2010). Asimismo se ha relacionado la presencia de formas solubles de elementos tóxicos en este río con la eliminación de vertidos industriales así como aguas residuales domésticas de las ciudades y otros asentamientos

humanos (Askarova, 2010). Por otro lado, cabe señalar que altos niveles de elementos tóxicos también han sido determinados en muestras biológicas recogidas de Kazajistán. De este modo se han detectado As y Hg en muestras de orina de niños de las ciudades Kazajas de Aralsk y Akchi (Erdinger y col., 2004), también se han determinado Pb, Cd y Zn en muestras de carnes de vacuno, caballo y ovino (hígado, riñones, pulmones tejido muscular) tomadas de la ciudad de Oskemen en el centro de la región este de Kazajistán (Figura 1.1) (Farmer y Farmer, 2000).

El objetivo del presente estudio fue la investigación de las concentraciones de los elementos tóxicos (As, Cd, Cr, Hg, Pb y U) así como elementos esenciales (Co, Cu, Fe, Mn, Sr, V y Zn) en muestras de arroz obtenidas de la Provincia de Kyzylorda de Kazajistán (Figura 3.1.) y comparar dichos valores con los obtenidos a partir de muestras de arroz obtenidas de España y Portugal. España es junto con Italia, uno de los principales productores de arroz en la Comunidad Europea compartiendo entre el 30 y el 50% de la producción europea de arroz. Portugal, Grecia y Francia también tienen un impacto notable en el mercado del arroz europeo (Cerdeño, 2012). Adicionalmente, la presencia de especies de As tales como arsenobetaína (ASB), dimetilarsinato (DMA), monomethylarsonate (MMA), arsenito de As (III) y arseniato de As (V) fueron determinados en las muestras de arroz donde la concentración de As total fue mayor de 0,3 µg/kg. Tras la investigación bibliográfica al respecto hemos de señalar que no existen datos publicados respecto a los niveles de ambos tipos de elementos; tóxicos y esenciales en arroz de Kazajistán. Adicionalmente, hay que señalar que es necesaria la obtención de datos acerca del arroz producido en la provincia de Kyzylorda ya que hay evidencias sobre la contaminación en la zona de minas y otras fuentes de contaminantes que pueden verse reflejas en el arroz.






Figura 3.1. Localizaciones de las zonas de muestras en la provincia de Kyzylorda.

3.2 Material y Métodos

3.2.1 Muestreo

Las muestras obtenidas de Kazajistán han sido de dos tipos, tanto arroz integral como de arroz refinado blanco. Se han obtenido un total de 51 muestras de arroz integral obtenidas directamente de cultivos locales de seis distritos de la provincia de Kyzylorda desde septiembre hasta noviembre de 2011 (Figura 3.1). Adicionalmente un total de 95 muestras de arroz refinado blanco fueron comprados de diversos mercados tradicionales y superficies comerciales en Kazajistán, Portugal y España. Las muestras kazajas (45 muestras) eran de las variedades "Kuban", "Kuban-3", "Leader", "Marzhan", "Red Marzhan", "Novator" y "Yantar". Las muestras españolas (30 muestras) eran de las variedades "Largo", "Bomba" y según el tratamiento "integral", "vaporizado" y "ecológico" (producido en cultivo ecológico). Las muestras obtenidas de Portugal (20 muestras) fueron de las variedades "Aguilha", "Biológico" y "Carolino".

3.2 2.Tratamiento de las muestras

De las muestras de arroz no refinado, es decir, arroz integral, procedentes de Kazajistán, la cascarilla se separó del grano de forma mecánica. Posteriormente, los granos fueron molidos hasta obtener un fino polvo mediante el empleo de un molino Grandomix (Haan, Rheinische, Alemania), y 1,0 g fueron depositados en un vaso de microondas al cual se añadió 5 ml de HNO_3 (67-69%) (Panreac, Barcelona, España), 5 ml de agua Milli-Q y 1 ml de H_2O_2 (33%) (Panreac). El vaso fue cerrado, y la muestra digerida utilizando un horno de microondas de Milestone Ethos 1 (Soriso, Italia). El programa para la digestión fue el siguiente: 85 °C (3 min), 145 °C (9 min), 180 °C (4 min) y 180°C (15 min), manteniendo la intensidad durante los 15 min del proceso. Posteriormente las muestras fueron enfriadas hasta temperatura ambiente, y la solución transferida a un frasco de plástico PET de 25 ml y diluida con agua Milli-Q. Blancos de reactivos fueron procesados simultáneamente para deducir el error inducido por el procedimiento analítico. El patrón de As fue obtenido de SCP Ciencia (Clark Graham, Canadá); los patrones de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Sr y Zn se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Alemania); y el patrón de V se obtuvo de Panreac (Barcelona, España). El solvente empleado para los patrones consistió en HNO_3 al 20%.

Todas las medidas fueron llevadas a cabo por Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) modelo ICP-MS820 (Varian, Mulgrave, Australia), empleando argón de alta pureza (99,999%) y un nebulizador concéntrico de vidrio a bajo régimen (400 $\mu\text{l}/\text{min}$) que está conectado a una cámara de Spray de doble paso. Las muestras se analizaron por triplicados con un tiempo mínimo de permanencia de 200 μs . Los siguientes isótopos fueron analizados en todas las muestras de arroz: ^{75}As , ^{112}Cd , ^{59}Co , ^{53}Cr , ^{63}Cu , ^{53}Fe , ^{200}Hg , ^{55}Mn , ^{207}Pb , ^{88}Sr , ^{238}U , ^{51}V , y ^{66}Zn .

El límite de detección del método (LDD) y el límite de cuantificación (LDQ) fueron calculados como la concentración asociada a tres y diez veces la desviación estándar del ruido de fondo registrado para 30 blancos de muestras de arroz reales. Las soluciones de los patrones de calibración fueron analizadas al principio y al final de cada secuencia de muestras, que consistió en bloques de 30 muestras. En la Tabla 3.1 se exponen los valores de LDD, LDQ y el rango de calibración para cada elemento. El Germanio (Ge) fue empleado

como patrón interno para el V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, y As y el Terbio (Tb) fue empleado como patrón interno para el caso del Sr, Cd, Hg, Pb y U.



Tabla 3. 1. Parámetros de control de Calidad del método Analítico

Elemento	LDD	LDQ	Veracidad arroz ^a	Veracidad hoja manzano ^a	Recuperacion, (%)	Repetibilidad (%)	Reproducibilidad ^a (%)
As ⁷⁵	0,03	0,09	104,70	N/A	105,3	6,27	38,50
Cd ¹¹¹	0,01	0,04	84,10	101,04	100,6	6,11	8,11
Co ⁵⁹	0,01	0,02	90,27	N/A	100,9	17,82	25,49
Cr ⁵³	0,05	0,18	N/A	100,79	88,9	29,03	32,49
Cu ⁶³	0,03	0,10	94,49	103,90	104,2	3,86	4,47
Fe ⁵⁶	1,60	5,32	118,89	95,81	104,6	7,53	12,39
Hg ²⁰²	0,01	0,02	75,16	96,42	89,8	19,70	14,81
Mn ⁵⁵	0,03	0,09	114,20	99,65	110,0	5,35	11,18
Pb ²⁰⁸	0,05	0,18	168,11	55,89	85,8	15,08	5,54
Sr ⁸⁸	0,86	2,86	N/A	90,54	104,8	6,38	9,71
U ²³⁸	0,03	0,10	N/A	74,20	61,0	13,27	12,85
V ⁵¹	0,03	10,00	N/A	73,99	95,5	12,99	12,22
Zn ⁶⁶	1,48	4,93	95,97	121,98	106,6	8,79	16,18

Elemento	LDD	LDQ	Veracidad arroz ^a	Veracidad hoja manzano ^a	Recuperacion, (%)	Repetibilidad (%)	Reproducibilidad ^a (%)
As(III)	0,05	0,15	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
As(V)	0,04	0,15	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Inorganic As	0,09	0,29	98 N/A,27	N/A	N/A	27,17	N/A
AsB	0,01	0,02	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
DMA	0,00	0,01	73,34	N/A	N/A	23,19	N/A
MMA	0,02	0,07	106,04	N/A	N/A	10,05	N/A
Suma As especiacion, mg/kg	0,11	0,35	83,18	N/A	N/A	24,62	N/A

N/A: no aplicable; ^aMaterial de referencia

3.2.3. Determinación de las especies de As

Para la especiación de las distintas variantes de As, 0,5 g de polvo de arroz fueron colocadas en un frasco al cual se añadieron 10 ml de HNO₃ al 1% (Panreac, Barcelona, España). Posteriormente el frasco se cerró y la muestra fue digerida por microondas de Milestone modelo Ethos 1 (Sorisole, Italia). La temperatura del horno se mantuvo durante un total de 90 min a 90 °C. Después de enfriar a temperatura ambiente, la solución se transfirió a tubos de centrifuga de poliestireno, centrifugada a 3000 rpm y filtrada con filtros de 0,45 µm de tamaño de poro de ALBET[®] LabScience (Dassel, Alemania).

Las soluciones de patrones fueron preparadas de forma diaria y almacenadas a 4°C en la oscuridad, As (V), As(III), AsB, DMA y MMA fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.) y AB fue obtenido del Instituto de Materiales y Medidas de Referencia (Geel, Bélgica). Los solventes empleados fueron filtrados a través de filtros de tamaño de poro 0,45 µm de ALBET[®] LabScience (Dassel, Alemania) para la especiación del As.

Para los análisis de las especies de As [As (III), As (V), AsB, DMA y MMA] fue empleado un HPLC-230 de Varian (Varian ProStar, Agilent Technologies, Stockport, Cheshire, Reino Unido) conectado a un ICP-MS 820 (Bruker, Mulgrave, Australia). El detector ICP-MS estuvo equipado con una interfaz de colisión-reacción para la gestión de la interferencia y un nebulizador concéntrico de vidrio conectado a la cámara de doble paso del nebulizador. La columna cromatográfica fue obtenida de Hamilton (Reno, NV, EE.UU.) siendo del tipo PRP-X100 de 10 µm de intercambio de aniones y de 250 x 4,1 mm. El volumen de inyección fue de 50 µl y el flujo de la fase móvil fue de 1 ml/min. La fase móvil consistió en el empleo de dos solventes, el primero denominado fase móvil A compuesto por una solución 12,5 mM de (NH₄)₂CO₃ y el segundo denominado fase móvil B, que consistió en una solución de 30 mM de (NH₄)₂CO₃, estando ambas fases móviles ajustadas a pH 9 con amoníaco. Se empleó un programa de elución en modo de gradiente de acuerdo a los siguientes parámetros temporales: t = 0 min, 100%A; t = 2 min 80%A, t = 2,9 min 60, t = 3 min 30%A, t=12,5 min 0%A. Se ha empleado agua de alta pureza Milli-Q (resistencia de 18,2M cm) empleando un equipo de purificación Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Las botellas de plástico, vasos y tubos cónicos (Rubí, Barcelona, España) fueron lavados mediante el empleo de HNO₃ 10% durante 24h y posterior lavado con agua Milli-Q.

3.2.4 Aseguramiento y control de calidad de los ensayos

Se han empleado dos materiales de referencia (MR) para el aseguramiento de la calidad de las determinaciones. De este modo se ha empleado harina de arroz (MR 1568B) y hojas de manzano (MR 1515). Ambos tipos de materiales de referencia fueron obtenidos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (Gaithersburg, Maryland, USA) y fueron empleados para calcular la veracidad y la precisión del método de análisis empleado.

3.2.5 Ingesta semanal estimada

La Ingestas Semanales Estimadas (ISE) tanto para el caso de la población Kazaja, Española o Portuguesa fueron calculadas para cada uno de los elementos investigados, teniendo en cuenta el contenido medio de los mismos determinado en el presente estudio, así como la ingesta media semanal de consumo de arroz para cada uno de los países señalados. Para los cálculos se tuvo en consideración un peso medio de 70 kg para los adultos y 24 kg para los niños, tal cual señala Ferré-Huguet y col. (2008). Los datos de consumo de arroz para la población Kazaja fueron calculados como la mediana de los datos de estudios del Ministerio de trabajo y protección social obtenidos de la Agencia de Estadística de la República de Kazajistán (2005), datos de la compañía líder en estudios de consumidores de Kazajistán (Good Creative Marketing PR, 2010) y datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2003).

Los datos que se emplearon para calcular la Ingesta Media Semanal (IMS) de la población española fueron los publicados por Cerdeño (2012) y para la población portuguesa los del Centro de Promoción de Importaciones de países en desarrollo (CBI, 2010).

Para calcular la IMS se ha empleado la siguiente ecuación:

$$IMS = C \times M/Bw$$

Donde C ($\mu\text{g/g}$) es la media de la concentración del elemento químico detectada en el arroz durante este estudio (Tablas 3.2, 3.3 y 3.4), M (kg) es la cantidad de arroz consumido semanalmente en el país (Kazjistán, Portugal o España) y Bw es el peso corporal.

3.2.6 Análisis estadístico

Para evaluar la significación de las diferencias en las concentraciones de mineral entre los tipos de arroz o el origen del mismo se ha realizado un análisis de la varianza (ANOVA) de una entrada. De igual modo se ha llevado a cabo un análisis discriminante lineal (ADL) para verificar la clasificación de las muestras de arroz de acuerdo a los datos obtenidos. Todos los análisis estadísticos realizados fueron llevados a cabo mediante el empleo del software Statgraphics Centurion® para Windows (SAS Institute, NC, USA).

3.3 Resultados y Discusión

3.3.1 As total y especiación del As en el arroz

Teniendo en cuenta que el As es esencial para los humanos, pero que también es tóxico a alta concentración o a una exposición crónica a largo plazo, la FAO/WHO ha señalado unos niveles máximos para el caso de As inorgánico de 0,15 mg/kg para el caso del arroz integral sin refinar. La FAO/WHO señala que se puede emplear el As total como método de cribado para luego determinar el As inorgánico en las muestras de interés. Por lo tanto, para el presente estudio, se midió la concentración de As total en una primera fase, los resultados se muestran en la Tabla 3.2. Los niveles de As total en el arroz integral sin refinar de Kazajistán fueron similares a los observados en arroz recogido de zonas dedicadas al reciclaje en la provincia china de Zhejiang (Fu y col. 2008). Sin embargo, los valores de As total fueron altos que los publicados para zonas afectadas por As en distritos de la India (Bhattacharya y col., 2010), que los medidos en una zona industrial y minera de tungsteno de alto riesgo en China (Liu y col., 2010) y que en muestras de arroz blanco refinado recogidas de Brasil (Poletti y col., 2014). Por otro lado, las concentraciones de As total en arroz integral recogido de diferentes zonas de Kazajistán ha indicado diferencias significativas ($p < 0,05$) siendo más alta la concentración de As en muestras de arroz recogido en la zona central de Kyzylorda. También se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras de arroz integral y las refinadas, siendo la concentración media de As total en el arroz integral el doble (0,24 mg/kg) que en el caso del arroz blanco refinado (0,10 mg/kg). Este resultado es esperado tras la molienda del arroz integral tal y como se puso de manifiesto por el Comité

conjunto FAO/WHO del Codex sobre contaminantes en alimentos (WHO, 2011). La media más alta de As total en arroz blanco fue obtenida en muestras de arroz procedentes de Portugal (0,36 mg/kg), con valores superiores a los determinados en arroz italiano por otros investigadores (Sommella y col., 2013).

La concentración de As total en el arroz refinado kazajo se encontró en el rango comprendido entre los 0,03 a 0,15 mg/kg y no excedió el valor señalado anteriormente de límite máximo (FAO/ WHO, 2012) y tampoco excedió el límite establecido por la legislación de Kazajistán de 0,2 mg/kg para el As total en cereales (Ministerio de salud de la República de Kazajistán, 2010).

Tabla 3.2. Especies de As en muestras de arroz kazajo, español y portugués

Elemento	Región	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
AsB	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,0001	0,0005	0	0,002
	Arroz blanco (España)	11	0,001	0,002	0	0,004
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,001	0,002	0	0,01
DMA	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,03	0,02	0	0,06
	Arroz blanco (España)	11	0,27	0,15	0,12	0,63
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,22	0,14	0,12	0,65
MMA	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,004	0,004	0	0,01
	Arroz blanco (España)	11	0,02	0,01	0	0,04
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,01	0,01	0	0,05
AsB+ DMA + MMA	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,04	0,02	0	0,06

Elemento	Región	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
As(III)	Arroz blanco (España)	11	0,29	0,16	0,12	0,66
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,23	0,15	0,13	0,71
	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,30	0,05	0,21	0,36
	Arroz blanco (España)	11	0,19	0,10	0,09	0,46
As(V)	Arroz blanco (Portugal)	13	0,13	0,05	0,08	0,26
	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,06	0,01	0,04	0,09
	Arroz blanco (España)	11	0,07	0,05	0,02	0,16
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,05	0,04	0,02	0,13
As(III) + As(V)	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,36	0,02	0,25	0,45
	Arroz blanco (España)	11	0,25	0,16	0,15	0,55
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,18	0,15	0,10	0,30
Suma de cinco especies de As	Arroz integral (Kazajistán)	11	0,40	0,06	0,29	0,49
	Arroz blanco (España)	11	0,55	0,26	0,30	1,21
	Arroz blanco (Portugal)	13	0,41	0,17	0,26	0,91

Cuando se comparan los valores de As total en el arroz blanco obtenido de Kazajistán con los valores obtenidos en las muestras de arroz español o portugués (Tabla 3.2),

nos encontramos con la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$). Todas estas muestras cuyas concentraciones de As total estuvieron por encima de 0,3 mg/kg fueron analizadas para determinar las diferentes especies de As (AsB, DMA, y 232 MMA, As (III), As (V)). Varios estudios han señalado que las principales especies de As detectadas en arroz son inorgánicas (Williams y col., 2006; Liang y col., 2010).

En el arroz blanco, tanto español como portugués, la especiación del As obtuvo el siguiente orden de concentración As (III) > MMA > As (V) > MMA > DMA > AsB (Tabla 3.2), mientras que en el arroz integral el orden fue: As (III) > As(V) > DMA > MMA > AsB, el hecho de que el As(III) sea el más abundante en ambos tipos de arroz es importante por su toxicidad. Nuestros resultados fueron similares a los obtenidos por otros investigadores de Bangladesh, China y Europa, en donde los valores de As inorgánico han predominado sobre el As orgánico (Liang y col., 2010; Williams y col., 2006). Sólo la media del As inorgánico en el arroz de España excedió de 0,20 mg/kg. De un total de 35 muestras con valores de As total superior a 0,3 mg/kg (13 muestras de arroz blanco portugués, 11 muestras de arroz blanco español y 11 muestras de arroz integral kazajo) siete españolas, cuatro portuguesas y nueve kazajas excedieron los límites establecidos por la FAO/WHO de As inorgánico (WHO, 2012). El DMA (Dimetilarsinato) fue la especie predominante en el arroz de España y de Portugal con un 53 y 56% respectivamente del As de carácter orgánico respectivamente. Sin embargo, en el arroz Kazajo no refinado el As predominante es el As inorgánico con un 90% del As total determinado clasificado como inorgánico, con una media de 0,36 mg/kg. Por tanto, el As (III) representó la especie más abundante en las muestras procedentes de Kazajistán. Teniendo en cuenta que existen evidencias del empleo de pesticidas con As en la región de Kyzylorda, así como de datos que han señalado concentraciones de As mayores en la orina de niños de la provincia de Kyzylorda que de niños europeos (Erdinger y col., 2004), los datos del presente estudio están en concordancia con los resultados previamente publicados por Erdinger y sus colaboradores. Tras la investigación bibliográfica correspondiente no nos consta la existencia de datos disponibles al respecto de las concentraciones de As en arroz de Kazajistán hasta la fecha. El arroz integral no es consumido de forma habitual en Kazajistán a diferencia de lo que sucede en España o Portugal en donde la población frecuentemente consume arroz crudo integral no refinado o marrón. Por lo tanto, se puede establecer al respecto que las especies de As inorgánico no van a suponer un peligro para la población kazaja, ya que el salvado del arroz integral tiene entre 10 y 20 veces una concentración de As inorgánico mayor que en el

arroz blanco refinado (Sun y col., 2008). Debido al relativamente alto contenido de As en las muestras de arroz sería interesante investigar el As total, así como el contenido de otros minerales tóxicos en el agua empleada para el hervido del arroz ya que es esperable un incremento de la concentración de As total en arroz tras el hervido del mismo (Domingo, 2011).

3.3.2 Concentraciones de Cd, Hg y Pb

La concentración total de Cd y Hg en el arroz integral recogido de diversas zonas de la república de Kazajistán mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) siendo las concentraciones de estos metales mayores en el arroz recogido en la zona central de la provincia de Kyzylorda. Estos resultados son consistentes con los datos expuestos por Berdenkulova (2008), quien demostró la existencia de diferencias entre el norte y el sur de la provincia de Kyzylorda en relación a las concentraciones de iones metálicos de las muestras de suelo y plantas. Sin embargo no se hallaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en las concentraciones de Pb determinadas para estas dos zonas de Kazajistán. El mínimo, máximo y la media de las concentraciones para el Cd, el Hg y el Pb en el arroz blanco obtenido de Kazajistán se encuentran recogidos en la Tabla 3.3. Incluso teniendo en cuenta que las concentraciones de As en el arroz Kazajo son similares a los datos recogidos previamente para otros países asiáticos, las concentraciones de Cd, Hg y Pb fueron más bajas que las consignadas en la bibliografía para países asiáticos así como datos relativos a EE.UU. (Al-Rmalli y col., 2012; Fu y col., 2008; Liu y col., 2007; Zuang y col., 2009; Qian y col., 2010; Park y col., 2011). Siendo similares a los publicados por Cao et al (2010) para el caso de China. En conjunto, se puede decir que las concentraciones de Cd, Hg y Pb en el arroz de Kazajistán estuvieron entre el LDD (Límite De Detección) y el LDC (Límite de Cuantificación) (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Concentraciones de As, Cd, Hg y Pb en muestras de arroz de Kazajistán, España y Portugal (mg/kg)

Elemento	Región	N	P ^a	D.E. ^b	Mínimo	Máximo
As	Arroz integral (Kazajistán)	51	0,24	0,09	0,04	0,36
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	0,10	0,03	0,03	0,15
	Arroz blanco (España)	30	0,28	0,24	<LDD	1,16
	Arroz blanco (Portugal)	20	0,36	0,14	0,22	0,78
Cd	Arroz integral (Kazajistán)	51	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (España)	30	<LDD	<LDD	<LDD	0,03
	Arroz blanco (Portugal)	20	0,03	0,02	<LDD	0,08
Hg	Arroz integral (Kazajistán)	51	<LDD	<LDD	<LDD	0,01
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	<LDD	<LDD	<LDD	0,01
	Arroz blanco (España)	30	0,01	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (Portugal)	20	0,01	<LDD	0,01	0,01
Pb	Arroz integral (Kazajistán)	51	<LDD	<LDD	<LDD	0,25
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	<LDD	<LDD	<LDD	0,08
	Arroz blanco (España)	30	<LDD	<LDD	<LDD	0,04
	Arroz blanco (Portugal)	20	0,01	<LDD	<LDD	0,02

^a Valores promedio; ^b Desviación estándar.

Cuando las concentraciones de Cd total, Hg y Pb medidas en el arroz blanco obtenidos de Kazajistán fueron comparados con los obtenidos de las muestras de arroz español o portugués (Table 3.1.3), las concentraciones de Hg fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$). De este modo la concentración media más alta de Hg fue hallada en los arroces blancos españoles y portugueses, con un valor medio de 0,01 mg/kg. Por su parte,

mientras que el arroz portugués alcanzó la media más alta para el caso de Cd y Pb, las muestras españolas y kazajas encontraron, de media, por debajo del LDD.

En cereales, las regulaciones legales de la república de Kazajistán establecen límites máximos para el Cd, Hg y Pb de 0,1, 0,03 y 0,5 mg/kg, respectivamente (Ministerio de Salud de la república de Kazajistán, 2010), mientras que el Reglamento 1881/2006 de la Comunidad Europea establece límites de 0,2 mg/kg para el Cd y el Pb y el Codex Alimentarius un límite de 0,4 mg/kg para el Cd. Basándonos en estas legislaciones se puede establecer que las concentraciones de Cd, Hg y Pb en el arroz comercial de Kazajistán, España y Portugal analizados durante este estudio estuvieron por debajo de los límites máximos establecidos.

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar la presencia de elementos tóxicos en muestras de arroz y evaluar el posible riesgo para la población de Kazaja a partir de este consumo de arroz. A partir de los resultados obtenidos y con respecto al Cd, el Hg y el Pb podemos establecer que no hay riesgo evidente para esta población debido al nivel de consumo de arroz de origen Kazajo, especialmente si consideramos que la población kazaja no consume arroz sin refinar o arroz integral. Siguiendo esta circunstancia debemos de señalar que las altas concentraciones de Cd, Pb y Zn hallados previamente en productos cárnicos de animales de abasto procedentes de Kazajistán (vacuno, caballo y ovino) (Farmer y Farmer, 2000) podrían suponer un riesgo más alto para la población que el arroz obtenido en dicho país.

3.3.3 Elementos esenciales (Co, Cu, Mn, Fe y Zn) en muestras de arroz

El Co, el Cu, el Mn, el Fe y el cinc son elementos que necesitan de una fuente dietética; sin embargo a altas concentraciones pueden tener una cierta toxicidad. Los valores medios, máximo y mínimo de las concentraciones de estos elementos en las muestras de arroz analizadas se muestran en la Tabla 3.1.4. Las concentraciones de Co, Cu y Mn en arroz integral recogido de la zona central y del sur de la provincia de Kyzylorda fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$). De este modo el arroz recogido en la zona central ha mostrado una media más alta de Co (0,02 mg/kg, Cu (2,51 mg/kg) y Mn (16,48 mg/kg). Sin embargo, las concentraciones de Zn y hierro, no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$)

entre las zonas centro y sur de dicha provincia. Por otra parte, las concentraciones de Co, Cu, Fe y Mn fueron significativamente diferentes entre el arroz integral y el blanco de Kazajistán, España y Portugal ($p < 0,05$). La concentración media de Cu en arroz kazajo fue mayor en el arroz integral (2,35 mg/kg) que en el blanco (1,84 mg/kg). Por otro lado, valores de Co y Mn fueron el doble en el arroz integral y los de Fe tres veces mayor en el integral. Este último resultado parece ser debido a la existencia de un gradiente de decrecimiento de la concentración de Fe desde el exterior hacia el espacio interior del grano (Prom-u-thai y col., 2007). La concentración de Fe en el arroz integral se encontró en el rango comprendido entre 9,99 y 65,15 mg/kg con una media de 18,55 mg/kg. Estos resultados fueron más bajos que los resultados publicados procedentes de China (media de 32 mg/kg, con un rango entre 0,40-147 mg/kg) (Zeng y col., 2010) y mayores que los hallados en la India (media 14,06 mg/kg; rango 1,25-39,19 mg/kg) (Anandan y col., 2011). Estudios de biodisponibilidad del Fe en el arroz han demostrado que la disponibilidad del Fe en el arroz es baja, por ejemplo, en dietas con cereales, el Fe no está disponible para el cuerpo humano debido a la presencia de fitatos. Aunque el cocinado degrada estos fitatos, el procesado del arroz podría incrementar la absorción de Fe (Prom-u-thai y col., 2007). La media de las concentraciones de Fe en el arroz blanco fue similar tanto para el caso de las muestras de arroz kazajo, como de arroz procedente de España o Portugal y fue similar a los valores puestos de manifiesto en un estudio llevado a cabo en Arabia Saudí (Shraim, 2014). Con respecto al Co, el Cu, el Mn y el Zn, varios estudios recientes sobre el arroz recogido de zonas mineras e industrializadas en Kazajistán han hallado niveles similares o mayores de Co, Cu, Mn y Zn en otros países asiáticos, europeos o en los Estados Unidos (Heikens y col., 2005; Liu y col., 2005; Fu y col., 2008; Zhuang y col., 2009; Anandan y col., 2011).

Tabla 3. 4. Concentraciones de otros metales pesados y elementos esenciales en el muestras de arroz de Kazajistán, España y Portugal (mg/kg).

Elemento	Región	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
Co	Arroz integral (Kazajistán)	51	0,02	0,01	0,01	0,04
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	0,01	0,004	<LDD	0,02
	Arroz blanco (España)	30	0,01	0,01	<LDD	0,06
	Arroz blanco (Portugal)	20	0,02	0,02	0,01	0,08
Cr	Arroz integral (Kazajistán)	51	0,21	0,11	0,06	0,54
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	0,13	0,07	<LDD	0,37
	Arroz blanco (España)	30	0,13	0,06	<LDD	0,28
	Arroz blanco (Portugal)	20	0,13	0,05	0,08	0,31
Cu	Arroz integral (Kazajistán)	51	2,35	0,53	1,40	3,94
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	1,84	0,54	0,69	2,95
	Arroz blanco (España)	30	2,13	0,81	1,05	5,22
	Arroz blanco (Portugal)	20	2,78	0,64	1,99	4,07
Fe	Arroz integral (Kazajistán)	51	18,55	8,07	9,99	65,15
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	5,27	3,22	2,68	18,49
	Arroz blanco (España)	30	5,01	3,14	2,53	19,23
	Arroz blanco (Portugal)	20	4,86	0,97	3,48	7,06
Mn	Arroz integral (Kazajistán)	51	15,47	2,96	8,21	24,17
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	6,14	1,46	3,56	10,49
	Arroz blanco (España)	30	9,98	6,49	3,70	40,08
	Arroz blanco (Portugal)	20	13,97	4,42	9,17	24,72
Sr	Arroz integral (Kazajistán)	51	1,33	<LDD	<LDD	2,47
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (España)	30	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD

Elemento	Región	N	Media	DE	Mínimo	Máximo
U	Arroz blanco (Portugal)	20	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz integral (Kazajistán)	51	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (España)	30	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
V	Arroz blanco (Portugal)	20	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz integral (Kazajistán)	51	0,04	0,07	<LDD	0,46
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz blanco (España)	30	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
Zn	Arroz blanco (Portugal)	20	<LDD	<LDD	<LDD	<LDD
	Arroz integral (Kazajistán)	51	20,95	4,59	9,00	29,43
	Arroz blanco (Kazajistán)	45	19,98	21,89	9,35	152,52
	Arroz blanco (España)	30	17,36	7,65	6,55	40,66
	Arroz blanco (Portugal)	20	23,68	6,16	13,23	36,28

3.3.4 Concentraciones de Cr, Sr, V y U en muestras de arroz

Las concentraciones de Cr, Sr, V y U en las muestras de arroz recogidas en Kazajistán, España y Portugal se muestran en la Tabla 3.4. Se han observado diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de Cr y V entre las muestras del centro y del sur de la provincia de Kyzylorda, las muestras de la zona central fueron las que alcanzaron mayores de Cr y V. Sin embargo, no hubo diferencias significativas para el caso de las concentraciones de Sr y U.

Las concentraciones de Cr, Sr y V fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre el arroz integral y el arroz refinado de la república de Kazajistán. Los valores medios más altos fueron medidos en el arroz integral. En particular la concentración media de Sr o fue 1,33 mg/kg en el arroz sin refinar y estuvo por debajo del LDD (0,86 mg/kg) en el arroz

refinado. Las concentraciones de Sr en el arroz refinado de origen kazajo, español o portugués fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$) y el Sr fue principalmente detectado en el arroz kazajo llegando a alcanzar una concentración máxima de 2,47 mg/kg. La concentración media de V estuvo por encima del LDD tan sólo para el caso de las muestras de arroz integral de Kazajistán y la concentración media de Cr fue similar en las muestras de Kazajistán, España y Portugal. Se debe de señalar que el U no fue detectado en las muestras de arroz analizadas, y es importante subrayar estos resultados dado Kazajistán fue país líder en la industria global del U durante 2012, año en el cual produjeron aproximadamente el 37% de la producción mundial de U. Algunas minas de U están localizadas en la zona de producción de arroz de la provincia de Kyzylorda, obteniéndose el 65% del total de U del país (el mayor porcentaje para una sólo provincia en Kazajistán). La poca información disponible sobre estos elementos en el arroz de Kazajistán ha sido el elemento clave que nos ha conducido a los estudios del contenido de estos metales en el arroz, dado que se precisa más información para poder evaluar el riesgo para la salud de la población local que se pueda vehicular a partir del consumo de arroz.

En referencia al Cr, algunos estudios llevados a cabo en arroz han demostrado que se trata de un elemento que es adquirido por las plantas de arroz a partir del suelo en el que se encuentra (Bhattacharya y col., 2005; Zeng y col., 2008). Las concentraciones de Cr medidas en el arroz de Kazajistán (0,03-0,054 mg/kg) fue similar al obtenido en otros países asiáticos como es el caso de China (Fu y col., 2008), Irán (Zazouli y col., 2006) y Korea (Jung y col., 2005). Con respecto a la concentración de U en arroz, los autores que han trabajado en zonas con alto contenido en U, también han demostrado la posible bioacumulación de este elemento en las plantas (0,134-1,293 mg/kg) debido al transporte de polvo cerca de las minas de U (Zoriy y col., 2010). Por lo tanto parece que la principal zona de producción de arroz en Kazajistán (La provincia de Kyzylorda) que ha sido muestreada en el presente trabajo no está contaminada con este elemento. La concentración media de V (0,04 mg/kg) en el arroz integral analizado en el presente estudio fue similar o incluso mayor que las encontradas en arroz blanco refinado (0,02 mg/kg) así como a las publicadas previamente por Myron y col. (1997) y Antoine et al (2012).

3.3.5 Clasificación de las muestras mediante el empleo del análisis discriminante

Se llevó a cabo la clasificación de las 146 muestras de arroz empleando los datos obtenidos para los 13 elementos estudiados, mediante el empleo del análisis discriminante. El contenido de elementos tóxicos y esenciales fue usado como descriptor en el análisis para llevar a cabo la clasificación de los diferentes tipos de arroz estudiados en el presente trabajo. Todas las muestras pertenecientes a arroz de Kazajistán tanto integral como blanco fueron correctamente clasificadas empleando las 13 variables estudiadas (Figura 3.2); sin embargo, algunas muestras pertenecientes a los arroces refinados tanto de origen portugués como español no fueron bien clasificadas debido a la alta similitud en los contenidos de minerales. Como se muestra en la Figura 3.2, se puede establecer que todas las muestras de arroz blanco son relativamente comparables de acuerdo a su contenido en minerales y por lo tanto pueden ser fácilmente discriminadas del grupo de muestras de arroz integral o no refinado. Entre las 146 muestras empleadas para realizar el ajuste del modelo un total de 130 (89,04%) fueron clasificadas correctamente. Otros investigadores han empleado previamente esta herramienta estadística para clasificar y establecer una rastreabilidad geográfica del arroz de acuerdo al contenido de minerales (González y col., 2011). Con respecto a las muestras de arroz integral, los grupos de muestras de las zonas central y sur de la provincia de Kyzylorda fueron bien clasificadas (98%) de tal modo que se pudieron separar en grupos diferentes entre sí. En relación a estas clasificaciones, el coeficiente estandarizado de la función discriminante muestra que las variables independientes que más afectan a la función discriminante son las concentraciones de Fe y de V. Es decir que el coeficiente estandarizado de la función discriminante describe la carga relativa de cada variable independiente en el valor de la función. Este coeficiente es consistente con los resultados obtenidos durante este estudio, indicando que la concentración de V en el arroz integral fue significativamente diferente entre la zona central y del sur de Kyzylorda. De hecho, una de las mayores compañías productoras de V de Kazajistán está ubicada en la zona sur de la provincia de Kyzylorda. Sin embargo, como se ha mencionado previamente, no se observaron diferencias significativas en relación a las concentraciones de Fe entre las áreas central y sur.

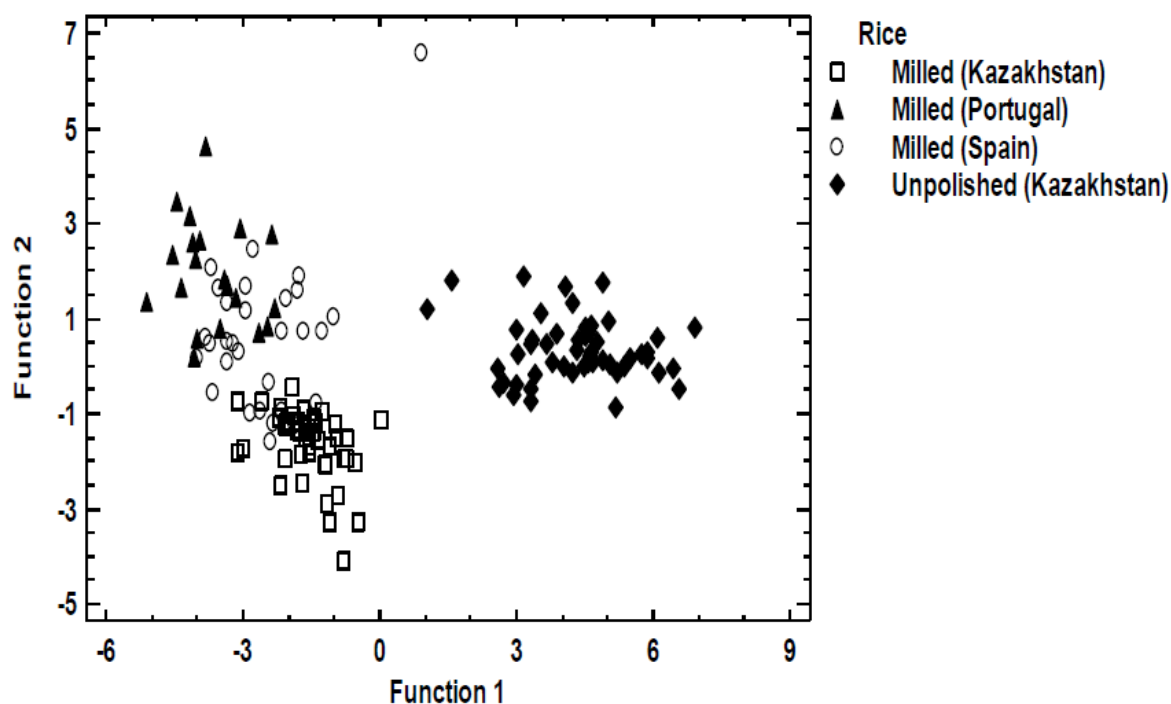


Figura 3.2. Gráfico de la función discriminante

3.3.6 Estimación de la ingesta media semanal de metales a partir del arroz de Kazajistán, de España y Portugal

La Organización Mundial de la Salud y la EFSA han establecido los siguientes valores provisionales de ingesta semanal media tolerable: 2,5 $\mu\text{g/kg}$ para el Cd (EFSA, 2011), 23,3 $\mu\text{g/kg}$ para el Cr (Lin y col., 2004; Zazouli y col., 2006), 3500 $\mu\text{g/kg}$ para el Cu (WHO, 1982), 4 $\mu\text{g/kg}$ para el Hg (WHO, 2010), 25 $\mu\text{g/kg}$ para el Pb (WHO, 1993) y 7000 $\mu\text{g/kg}$ para el Zn (WHO, 1982). De forma específica la ingesta tolerable provisional para el As (0,5-3,0 $\mu\text{g/kg}$) fue retirada en 2010 (WHO, 2010) y en la actualidad hay un límite máximo en arroz blando de 15 $\mu\text{g/kg}$ (FAO/WHO). La ingesta semanal fue calculada para las poblaciones kazaja, española, y portuguesa teniendo en cuenta las concentraciones de As total, As inorgánico, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Pb, Sr, U y V obtenidas en el arroz de Kazajistán, España y Portugal. (Tabla 3.5). La ingesta estimada semanal para el As (0,22-1,69 $\mu\text{g/kg}$ para adultos; 0,33-4,10 $\mu\text{g/kg}$ para los niños), As inorgánico (0,29-0,84 $\mu\text{g/kg}$ para adultos; 0,70-2,04 $\mu\text{g/kg}$ para los niños), Cd (0,02-0,14 $\mu\text{g/kg}$ para adultos, 0,07-0,33 $\mu\text{g/kg}$ para niños), Cr (0,15-0,61 $\mu\text{g/kg}$ para adultos, 0,35-0,70 $\mu\text{g/kg}$ para niños), Cu (2,51-12,94 $\mu\text{g/kg}$ para

adultos, 5,95-31,46 $\mu\text{g/kg}$ para niños), Hg (0,01-0,04 $\mu\text{g/kg}$ para adultos; 0,02-0,09 $\mu\text{g/kg}$ para niños), Pb (0,01-0,04 $\mu\text{g/kg}$ para adultos; 0,02-0,10 $\mu\text{g/kg}$ para niños) y Zn (20,46-110,29 $\mu\text{g/kg}$ para adultos; 48, 57-268,08 $\mu\text{g/kg}$ para niños) a partir del consumo de arroz para adultos y niños kazajos, españoles y portugueses fueron más bajos que los valores tolerables establecidos de forma provisional por la WHO y la EFSA. La EFSA ha retirado sus valores tolerables provisionales para el caso de la ingesta de Pb (EFSA, 2010). En relación al As inorgánico el comité de expertos en aditivos alimentarios mixto FAO/ WHO determinó el límite menor de la dosis de referencia para un aumento de la incidencia de 0,5% de cáncer de pulmón (Benchmark dose for a 0,5% increased incidence of lung cancer (BMDL_{0,5})) a partir de estudios epidemiológicos como un valor de 3,0 $\mu\text{g/kg}$ de peso por día (2-7 $\mu\text{g/kg}$ peso por día basado en el rango de exposición dietética total; FAO/ WHO, 2010). Basándonos en estos datos se puede asumir que las cantidades de As total o inorgánico, Cd, Cr, Cu, mercurio, Pb y Zn consumidos a través del arroz no suponen un riesgo para las personas de Kazajistán, España o Portugal. Debido al abundante abastecimiento de minerales accesibles en Kazajistán, la ingesta de metal de la población de esta república debe de tener otra fuente de procedencia diferente del arroz. No existe bibliografía relativa al riesgo procedente de los metales consumidos con el arroz en Kazajistán. De este modo es muy importante tener información relevante para estimar el riesgo para la salud a causa del consumo de arroz por parte de la población kazaja.

Tabla 3.5. Promedio estimado de la ingesta semanal de metales pesados y elementos esenciales al comer arroz Kazajo, Español y Portugués (70 kg de peso corporal para adultos y 24 kg de peso corporal para niños)

Elementos	Kazajistan		España		Portugal	
	Adultos 150 ^a	Niños 125 ^a	Adultos 82.47 ^a	Niños 67.12 ^a	Adultos 326.03 ^a	Niños 271.7 ^a
As total	0,22	0,53	0,33	0,78	1,69	4,10
As inorgánico	0,77	1,88	0,29	0,70	0,84	2,04
Cd	0,03	0,07	0,02	0,05	0,14	0,33
Co	0,03	0,06	0,01	0,02	0,06	0,13
Cr	0,29	0,70	0,15	0,35	0,61	0,68
Cu	3,94	9,57	2,51	5,95	12,94	31,46
Fe	11,29	27,45	5,91	14,02	22,65	55,05
Hg	0,01	0,03	0,01	0,02	0,04	0,09
Mn	12,83	31,19	10,36	24,60	62,39	151,64
Sr	0,77	1,88	0,25	0,60	0,55	1,34
Pb	0,03	0,08	0,01	0,02	0,04	0,10
U	0,0004	0,001	0,0003	0,001	0,001	0,002
V	0,03	0,07	0,02	0,04	0,09	0,22
Zn	42,80	104,04	20,46	48,57	110,29	268,08

^aMedias de consumo de arroz (g/semana) para cada grupo de población;

Durante el presente estudio los valores correspondientes a la ingesta media semanal estimada para el caso del As, el Cd, el Pb, el Cu, el Cr y el Zn calculados en arroz blanco consumido por adultos y niños kazajos fueron menores que las ingestas previamente estimadas en otros países asiáticos, como el caso de Taiwán (Lin y col., 2004) o Irán (Zazoli y col., 2006), asimismo, las ingestas medias semanales estimadas para la población española y portuguesa fueron menores que las observadas en los datos puestos de manifiesto por Ferré-Huguet et al (2008) y Martorell et al (2011) en España.

3.4. Conclusiones

Los resultados de arroz obtenidos durante este estudio proporcionan una mejor comprensión del estado actual del arroz obtenido en Kazajistán, España y Portugal y su riesgo potencial para la salud humana. Basándonos en los datos obtenidos, puede afirmarse que el arroz de las muestras analizadas no contenía concentraciones de elementos tóxicos tales como Cd, Hg y Pb por encima de los LM establecidos por las diferentes legislaciones europeas y kazajas. Sin embargo, el 90% del As detectado en el arroz integral era inorgánico ($n = 11$), siendo ligeramente superiores al límite máximo de 0,15 mg/kg. La especie de As (III) fue la especie predominante en el arroz integral. Es necesario realizar más estudios con más muestras a fin de determinar el nivel de As en el arroz procedente de Kazajistán. Del mismo modo, las muestras de arroz blanco español y portugués superaron los límites máximos de 0,15 mg/kg (11 y 13 muestras, Respectivamente), la mayoría de las especies de As fue DMA orgánico. La distribución de la contaminación ambiental en la provincia de Kyzylorda se reflejó en los resultados para concentraciones de algunos minerales (p. ej. las diferencias en la concentración de V entre las zonas central y meridional). Sin embargo, aunque la contaminación medioambiental de Kazajistán parece ser superior a la de España o Portugal, las concentraciones de los elementos estudiados en el arroz fueron inferiores a las esperadas. A pesar de la importancia de los datos presentados en este estudio, hay que ser cauto ya que el muestreo se ha realizado solamente en la provincia de Kyzylorda (226.019 km²) y Kazajistán es un país cuya superficie es mayor de 2,7 millones de kilómetros cuadrados y el muestreo resulta complicado.

3.5. Referencias

Al-Rmalli, S. W., Jenkins, R. O., Haris, P. I. (2012). Dietary intake of cadmium from Bangladeshi foods. *Journal of Food Science*, 71, 26–33.

Anandan, A., Rajiv, G., Eswaran, R., Prakash, M. (2011). Genotypic variation and relationships between quality traits and trace elements in traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Journal of Food Science*, 76, 122–130.

Antoine, J. M. R., Hoo Fung, L. A., Grant, C. N., Dennis, H. T., Lalor, G. C. (2012). Dietary intake of minerals and trace elements in rice on the Jamaican market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26, 111–121.

Askarova, M. A. (2010). Regionalnaya otsenka zagryaznennosti vodohozyaystvennyih basseynov Kazakhstana. <http://vestnik.kazntu.kz/?q=ru/node/491> (in Russian). Accessed February 10, 2013.

Berdenkulova, A. Zh. (2008). Aral onirinin turli su kozderi men topyraktyn lastanu dengeyi zhane onyn aymak turgyndarynyn tireoidty zhuyesinin funktsiyalyk belsendiligimen tuyisui. PhD Thesis, The Korkyt Ata Kyzylorda State University, Kazakhstan (in Kazakh).

Bhattacharya, P., Samal, A. C., Majumdar, J., & Santra, S. C. (2010). Arsenic contamination in rice, wheat, pulses, and vegetables: A study in an arsenic affected area of west Bengal, India. *Water, Air, and Soil Pollution*, 213, 3–13.

Cao, H., Chen, J., Zhang, J., Zhang, H., Qiao, L., Men, Y. (2010). Heavy metals in rice and garden vegetables and their potential health risks to inhabitants in the vicinity of an industrial zone in Jiangsu, China. *Journal of Environmental Sciences*, 22, 1792–1799.

Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries. (2010). The-rice-and-pulses-market-in-the-EU. <http://www.cbi.eu/marketintel/The-rice-and-pulses-market-in-the-EU/162087>. Accessed June 10, 2013.

Cerdeño, V. J. M. (2012). Consumo de arroz en España. Distribución y Consumo, 121, 102–105. (in Spanish).

Domingo, J. L. (2011). Influence of cooking processes on the concentrations of toxic metals and various organic environmental pollutants in food: A review of the published literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 29–37.

Erdinger, L., Eckl, P., Ingel, F., Khussainova, S., Utegenova, E., Mann, V., & Gabrio, T. (2004). The Aral Sea disasterhuman biomonitoring of Hg, As, HCB, DDE and PCBs in children living in Aralsk and Akchi, Kazakhstan. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 207, 541–547.

European Food Safety Authority (EFSA). (2010). Scientific opinion on lead in food, EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 8(4), 1570.

European Food Safety Authority (EFSA). (2011). Statement on tolerable weekly intake for cadmium. EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 9, 1975.

Farmer, A. A., Farmer, A. M. (2000). Concentrations of cadmium, lead and zn in livestock feed and organs around a metal production centre in eastern Kazakhstan. *The Science of the Total Environment*, 257, 53–60.

Ferre-Huguet, N., Marti-Cid, R., Schuhmacher, M., & Domingo, J. L. (2008). Risk assessment of metals from consuming vegetables, fruits and rice grown on soils irrigated with waters of the Ebro River in Catalonia, Spain. *Biological Trace Element Research*, 123, 66–79.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2003). Potrebienie risa. <http://chinalist.ru/facts/viewyears.php?>

p_lang=0&p_country=112&p_param=1055 (in Russian). Accessed June 13, 2013.

Fu, J., Zhou, Q., Liu, J., Liu, W., Wang, T., Zhang, Q., and Jiang, G. (2008). High levels of heavy metals in rice (*Oryza sativa* L.) from a typical E-waste recycling area in southeast China and its potential risk to human health. *Chemosphere*, 71, 1269–1275.

Gonzálvez, A., Armenta, S., De la Guardia, M. (2011). Geographical traceability of "Arros de Valencia" rice grain based on mineral element composition. *Food Chemistry*, 126, 1254–1260.

Good Creative Marketing PR. (2010). Marketingovoe issledovanie ryinka krup Respubliki Kazakhstan. <http://www.good.kz/marketing/cerealsresearch> (in Russian). Accessed June 10, 2013.

Health Ministry of the Republic of Kazakhstan. (2010). Ob utverzhdenii sanitarnyih pravil "Sanitarno-epidemiologicheskie trebovaniya k pischevoy produkcii", Prikaz i.o. Ministra zdavoohraneniya Respubliki Kazakhstan ot 6 avgusta 2010 goda N 611. Zaregistrovan v Ministerstve yustitsii Respubliki Kazakhstan 24 avgusta 2010 goda N6440 http://adilet.zan.kz/rus/docs/V100006440_#z0 (in Russian). Accessed June 17, 2013

Heikens, A., Widianarko, B., Dewi, I. C., De Boer Jan, L. M., Seinen, W., & Van Leeuwen, K. (2005). The impact of the hyperacid Ijen Crater Lake. Part I: Concentrations of elements in crops and soil. *Environmental Geochemistry and Health*, 27, 409–418.

Jung, M. C., Yun, S. T., Lee, J. S., & Lee, J. U. (2005). Baseline study on essential and trace elements in polished rice from South Korea. *Environmental Geochemistry and Health*, 27, 455–464.

Liang, F., Li, Y., Zhang, G., Tan, M., Lin, J., Liu, W., y col. (2010). Total and speciated arsenic levels in rice from China. *Food Additives and Contaminants*, 27, 810–816.

Lin, H. T., Wong, S. S., & Li, G. C. (2004). Heavy metal content of rice and shellfish in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 12, 167–174.

Liu, C., Luo, C., Gao, Y., Li, F., Lin, L., Wu, C., Li, X. (2010). Arsenic contamination and potential health risk implications at an abandoned tungsten mine, southern China. *Environmental Pollution*, 158, 820–826.

Liu, H., Probst, A., Liao, B. (2005). Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzhou lead/zinc mine spill (Hunan, China). *Science of the Total Environment*, 339, 153–166.

Liu, W. X., Shen, L. F., Liu, J. W., Wang, Y. W., Li, S. R. (2007). Uptake of toxic heavy metals by rice (*Oryza sativa* L.) cultivated in the agricultural soil near Zhengzhou City, People's Republic of China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79, 209–213.

Martorell, I., Perelló, G., Martí-Cid, R., Llobet, J. M., Castell, V., Domingo, J. L. (2011). Human exposure to arsenic, cadmium, mercury, and lead from foods in Catalonia, Spain: Temporal trend. *Biological Trace Element Research*, 142, 309–322.

Ministry of Labor and Social Protection and Statistical Agency of the Republic of Kazakhstan. (2005). Ob utverzhdenii Pravil rascheta velichinyi prozhitochnogo minimuma (2005) Sovmestnyiy prikaz Ministerstva truda i sotsialnoy zashchityi naseleniya Respubliki Kazahstan ot 2 dekabrya 2005 goda N 307/1-p i Predsedatelya Agentstva Respubliki Kazahstan po statistike ot 5 dekabrya 2005 goda N 194. Retrieved June 10, 2013 from http://adilet.zan.kz/rus/docs/V050003980_ (in Russian).

Musabekov, S. M., Yakovleva, N. A., Kasanova, K. T., Idayatov, P. B., & Mahmutov, B. M. (2009). Sovremennoe sostoyanie i dinamika izmeneniya stepeni zagryaznennosti okruzhayushey i vnutrenney sredy organizma zhiteley Priaralya. In *Proceedings of the 12th international conference* (pp. 100–103). *Ekologiya i razvitie obschestva*: St. Peterburg, Russia (in Russian).

Park, B. J., Lee, J. H., Kim, W. I. (2011). influence of soil characteristics and arsenic, cadmium, and lead contamination on their accumulation levels in rice and human health risk through intake of rice grown nearby abandoned mines. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54, 575–582.

Poletti, J., Pozebon, D., de Barcellos Fraga, M. V., Dresslerb, V. L., and de Moraes, D. P. (2014). Toxic and micronutrient elements in organic, brown and polished rice in Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 7, 63–69.

Prom-u-thai, C., Fukai, S., Godwi, I. D., Huang, L. (2007). Genotypic variation of iron partitioning in rice grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2049–2054.

Qian, Y., Chen, C., Zhang, Q., Li, Y., Chen, Z., & Li, M. (2010). Concentrations of cadmium, lead, mercury and arsenic in Chinese market milled rice and associated population health risk. *Food Control*, 21, 1757–1763.

Regulation 1881/2006 of the European Communities. (2006). Commission regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance) (OJ L 364, 20.12.2006, p. 5) 2006R1881-EN-01.07.2010-004.001-1.

Shraim, A. M. (2014). Rice is a potential dietary source of not only arsenic but also other toxic elements like lead and chromium. *Arabian Journal of Chemistry* (in press).

Sommella, A., Deacon, C., Norton, G., Pigna, M., Violante, A., Meharg, A. A. (2013). Total arsenic, inorganic arsenic, and other elements concentrations in Italian rice grain varies with origin and type. *Environmental Pollution*, 181, 38-43.

Sun, G., Williams, P. N., Carey, A., Zhu, Y., Claire, D., Raab, A., y col. (2008). Inorganic arsenic in rice bran and its products are an order of magnitude higher than in bulk grain. *Environmental Science and Technology*, 44, 5464-5468.

Temen, A. (2011). Prezident zhane halyik Syir elinde serpin bar. <http://pr-hal.kz/?p=2085> (in Kazakh). Accessed June 10, 2013.

Williams, P. N., Islam, M. R., Adomako, E. E., Raab, A., Hossain, S. A., Zhu, Y. G. (2006). Increase in rice grain for regions of Bangladesh irrigating paddies with elevated arsenic in groundwaters. *Environmental Science and Technology*, 40, 4903-4908.

Williams, P. N., Villada, A., Deacon, C., Raab, A., Figuerola, J., Green, A. J. (2007). Greatly enhanced arsenic shoot assimilation in rice leads to elevated grain levels compared to wheat and barley. *Environmental Science and Technology*, 41, 6854-6859.

(WHO) World Health Organization. (2011). Joint FAO/WHO Food standards programme Codex committee on contaminants in foods, The Hague, The Netherlands.

(WHO/FAO) World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1982). Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: The 26th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food, WHO Additive Series No. 17, Geneva, Switzerland.

(WHO/FAO) World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1993). Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: The 41st report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Tech. Reports Series No. 837, Geneva, Switzerland.

(WHO/FAO) World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2010). Seventy-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food additives, JECFA/72/SC, Rome, Italy.

(WHO/FAO) World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). Joint FAO/WHO Food standards program Codex committee on contaminants in foods, Sixth Session, Maastricht, The Netherlands, 26–30 March 2012, CX/CF 12/6/8.

(WHO/FAO) World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013). Joint FAO/WHO Food standards programme Codex committee on contaminants in foods, Seventh Session, Moscow, Russian Federation, 8–12 April 2013, CF/7 INF/1.

Zazoli, M. A., Shokrzadeh, M., Bazerafshan, E., Hazrati, M., and Tavakkouli, A. (2006). Investigation of Zn content in Iranian rice (*Oryza sativa* L.) and its weekly intake. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 1, 156-159.

Zeng, F., Mao, Y., Cheng, W., Wu, F., & Zhang, G. (2008). Genotypic and environmental variation in chromium, cadmium and lead concentrations in rice. Environmental Pollution, 153, 309-314.

Zeng, Y., Zhang, H., Wang, L., Pu, X., Du, J., Yang, S., and Liu, J. (2010). Genotypic variation in element concentrations in brown rice from Yunnan landraces in China. *Environmental Geochemistry and Health*, 32, 165-177.

Zhuang, P., McBride, M. B., Xia, H., Li, N., and Li, Z. (2009). Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the Total Environment*, 407, 1551-1561.

Zoriy, P., Ostapczuk, P., Dederichs, H., Hobig, J., Lennartz, R., and Zoriy, M. (2010). Biomonitoring of environmental pollution by thorium and uranium in selected regions of the Republic of Kazakhstan. *Journal of Environmental Radioactivity*, 101, 414-420.



Capítulo 4: Estudio sobre los elementos tóxicos y esenciales en el grano de trigo de Kazajistán



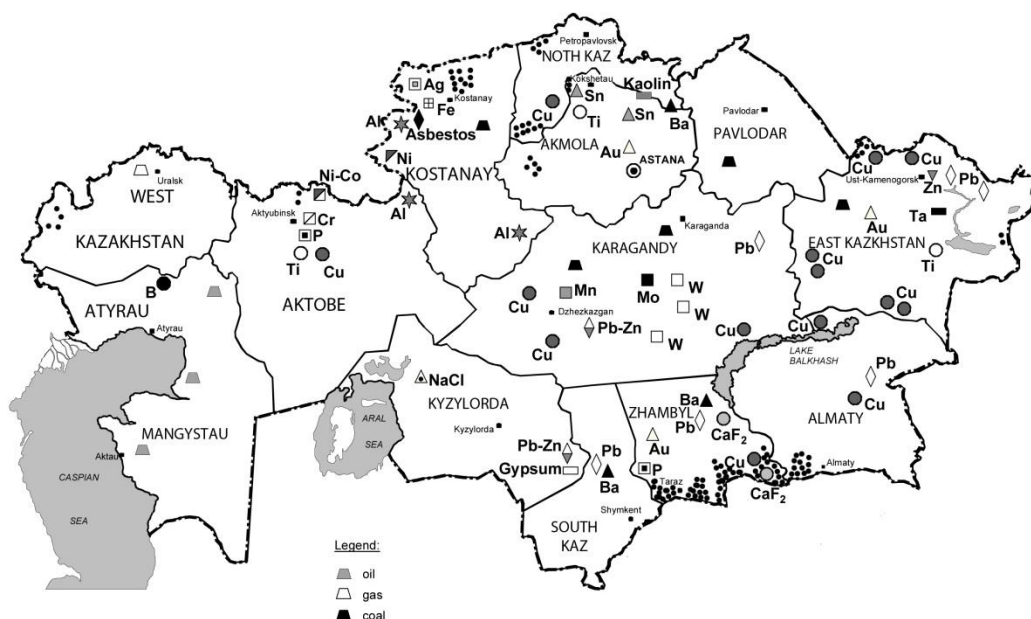


4.1. Introducción

Entre los diferentes cereales que existen en el mundo el trigo es el que se produce en mayor volumen. Se utiliza para alimentar a aproximadamente un tercio de la población mundial (Abbas y col., 2011). Según la WHO/FAO los kazajos consumieron en el año 2000 unos 203,9 g/persona/día de trigo (FAO 2000), estos valores son superiores a los de Australia, China, Etiopía e India (186, 164, 103 y 171 g/habitante/día) e inferiores a los de Argentina, Marruecos y Turquía (320, 520 y 476 g/habitante/día) durante 2003-2005 (Dixon y col., 2009).

El trigo kazajo se caracteriza por su calidad, ya que tiene un alto contenido en proteínas (14-16%) y gluten (21,40%) (Abugalieva y col., 2010) esto explica por qué Kazajistán es uno de los seis mayores exportadores de trigo del mundo. Anualmente, Kazajistán exporta un promedio 8,6 Mt de trigo, que incluyen alrededor de 2 Mt de harina de trigo (ASRARFCA 2013). Kazajistán se puede dividir en cinco regiones según el suelo, las condiciones climáticas y económicas de la zona; Zona Norte, Central, Occidental, Oriental y Meridional. En la región septentrional es donde se produce la mayor parte del trigo de Kazajistán 71% del trigo total, el 10% en la parte occidental, el 5% en el este y el 3,5% en la central y meridional. Los cultivos de cereales ocupan el 76,82% de la superficie sembrada de Kazajistán; aproximadamente 11,8-13,5 millones de hectáreas están dedicadas al cultivo del trigo (ASRARFCA 2013).

Otro aspecto importante de la economía de Kazajistán es la presencia de extensas regiones mineras, con áreas que extraen As, Ba, Cu, Pb, Ti, Ta, Pb y Zn (Figura 4.1). Durante muchos años, Kazajistán ha sido el principal productor de metales no ferrosos en la antigua Unión Soviética. Siendo hoy en día el principal productor mundial de U (33% de la producción mundial) y un gran productor de Cr, Cd, Mn, Ti y Re (Brininstool., 2010).



eo, áreas mineras y ac

Kazajistán) ha sido contaminado con altas concentraciones de Hg cuyo origen se debe a una planta de acetaldehído (Heaven y col., 2000). Kaminskaya y col. (2007) informaron que las muestras de grano de trigo recogidas en las partes Norte, central y meridional de Kazajistán habían superado entre tres y 86 veces el LM local para el Cd. Las concentraciones de Cd oscilaron entre 0,38 y 8,60 mg/kg y las de Pb de 0,51 a 0,68 mg/kg (Kaminskaya 2007).

Teniendo en cuenta que las diferentes minas, la metalurgia, la energía nuclear, los residuos industriales y los pozos petrolíferos contribuyen a la contaminación del suelo, el aire y el agua y que coexisten con la producción, exportación y consumo de trigo se puede pensar que pueden surgir problemas de inocuidad de los alimentos y por tanto de seguridad alimentaria. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue estudiar la presencia de elementos tóxicos (As, Cd, Cr, Hg, Pb y U) y elementos esenciales (Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se y Zn) en muestras de grano de trigo obtenidos en diferentes zonas de Kazajistán y evaluar el posible riesgo para la población kazaja.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Áreas de muestreo

Entre septiembre y noviembre de 2012 y septiembre y noviembre de 2013 fueron tomadas total de 117 muestras de grano de trigo blando (*Triticum aestivum* L.) en Kazajistán. De las cuales , 30 muestras fueron obtenidas del norte de Kazajistán, cerca de las ciudades de Kostanay, Kokshcetau y Petropaul (Figura 4.1), 20 fueron recogidas de los campos experimentales del Instituto Cazaque de Investigación Científica de Agricultura y Producción Agrícola de Almalibak y 50 de la ciudad de Jambyl, ambas localizadas en la zona Sur del país. Seis muestras se tomaron del Oeste Kazajistán en concreto de la provincia de Kazajistán occidental y Aktobe, cuatro y dos muestras, respectivamente. Del Este también se obtuvieron seis muestras. Las muestras pertenecían a diferentes variedades de trigo, incluyendo

Omskaya-18, Omskaya-29, Omskaya-30, Omskaya 36, Saratovskaya-55, Steklovidnaya 24, Nak, Almaly, Mereke-70, Egemen-20, Bogarnaya-56, Aral y Pamyati Bekenova.

4.2.2. Preparación de la muestra

Para el análisis de las muestras y la preparación de las soluciones se utilizó agua desionizada de alta pureza (resistividad 18,2 MΩ cm). Esta agua se obtuvo utilizando un sistema de purificación de agua Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EE.UU.). Las botellas de plástico, los recipientes y los tubos cónicos (Rubi, Barcelona, España) se limpiaron sumergiéndolos en HNO₃ (10%) durante 24 h y luego se aclararon con agua Milli-Q. El As se obtuvo de SCP Science (Clark Graham, Canadá) y el Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Zn y U se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Alemania). Los patrones se disolvieron en HNO₃ (20%).

Las muestras se dividieron en dos partes; una parte, que se denominó trigo lavado, se lavó con agua del grifo para eliminar todas las partículas y seguidamente se enjuagó tres veces con agua destilada secándola finalmente en la estufa a 38 °C hasta obtener un valor de peso constante (Huang y col., 2008). La segunda parte se analizó sin ser lavada.

En total, se analizaron elementos tóxicos y esenciales en 117 granos de trigo lavados y no lavados. Las muestras se molieron hasta obtener un polvo fino usando un molino de Grandomix (Haan Rheinische, Alemania). Una muestra en polvo (1,0 g) se colocó en un recipiente en el que se añadieron 5 ml de HNO₃ (67 - 69%) (Panreac, Barcelona, España), 5 ml de agua Milli-Q y 1 ml de H₂O₂ al 33% (v/v) (Panreac, Barcelona, España). El recipiente se cerró y se colocó dentro de un horno microondas para la digestión (Milestone Ethos 1, Sorisole, Italia). La digestión se realizó de acuerdo con el siguiente programa: 85 °C (3 min), 145 °C (9 min), 180 °C (4 min) y 180° C (15 min), manteniendo la potencia a 1000 W durante

15 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, la solución se transfirió a una botella de PET de 25 ml y se diluyó con agua Milli-Q. Los reactivos y el material de referencia se procesaron simultáneamente con las muestras para evaluar la posible contaminación y el rendimiento del procedimiento analítico. Los extractos de las muestra se analizaron por triplicado.

El análisis de As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Mn, Pb, Se, U y Zn en grano de trigo se llevó a cabo usando un ICP-MS modelo 820 (Varian, Mulgrave, Australia), empleando argón de alta pureza (99,999%) y un nebulizador concéntrico de vidrio de Micromist que estaba conectado a una cámara de pulverización de doble paso. Se empleó un tiempo mínimo de permanencia de 200 μ s y se analizaron los siguientes isótopos de cada elemento en todas las muestras de grano de trigo: ^{75}As , ^{111}Cd , ^{59}Co , ^{53}Cr , ^{63}Cu , ^{56}Fe , ^{202}Hg , ^{60}Ni , ^{55}Mn , ^{208}Pb , ^{82}Se , ^{238}U and ^{66}Zn .

Los límite de detección (LDD) y de cuantificación (LDQ) del método se calcularon como la concentración asociada a tres y diez veces la desviación estándar del ruido de fondo registrado para 30 blancos de muestras de trigo reales. Las soluciones de calibración se analizaron al comienzo y al final de cada secuencia de muestreo la cual constaba de 30 muestras. La Tabla 4.1 muestra LDD, LDQ y rango de calibración de cada elemento. Se empleó germanio (Ge) como patrón interno para V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn y el As y Tb para Sr, Cd, Hg, Pb y U. La repetibilidad y reproducibilidad del método se calculó analizando seis repeticiones del material de referencia el mismo día y durante tres días distintos.

Tabla 4. 1 LDD, LDQ, veracidad, repetibilidad y reproducibilidad del método

Elemento	LDD (mg/kg)	LDQ (mg/kg)	Veracidad (%)	Repetibilidad (%)	Reproducibilidad (%)
As	0,008	0,028	97	4	14
Cd	0,001	0,004	67	41	41
Co	0,002	0,007	58	41	31
Cr	0,007	0,024	105	27	40
Cu	0,078	0,259	84	3	13
Fe	0,679	2,264	100	8	6
Hg	0,001	0,002	185	10	15
Mn	0,002	0,008	82	4	14
Ni	0,100	0,334	53	31	23
Pb	0,012	0,039	42	20	21
Se	0,005	0,017	67	14	29
U	0,001	0,001	29	14	31
Zn	0,280	0,932	111	9	6

4.2.3. Control de calidad

El material de referencia (MR), trigo (GBW1011), se obtuvo del Centro Nacional de Investigación de Materiales Estándar en China y se usó para validar los análisis.

4.2.4. Riesgo para la salud derivados del consumo de trigo Kazajo

De acuerdo con los datos de la FAO, la población kazaja consumió 203,9 kg de trigo por habitante en el año 2000 (FAO 2000), otro informe indicaba que el consumo medio de

trigo fue durante 2003-2005 de 392 g/persona/día (Dixon y col., 2009). Por ello, la ingesta media de trigo de la población kazaja se obtuvo utilizando la concentración media de los dos datos anteriores. La ingesta diaria calculada fue de 820 g/persona/día y 270 g/persona/día para niños, suponiendo que el consumo de los niños es un tercio de los adultos.

El riesgo potencial no cancerígeno para los elementos tóxicos y esenciales seleccionados se podría expresar como el cociente de riesgo (HQ) (EPA 1989). Los valores para cada elemento se calcularon de la siguiente manera:

$$HQ = ADD / RfD \text{ (Ecuación 1)}$$

$$ADD = C \times IR / BW \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde ADD es la dosis media de ingesta diaria que se calculó empleando: la concentración media de elementos tóxicos y no tóxicos obtenidos durante este trabajo de investigación (C; mg/kg); la tasa de ingesta de grano de trigo (IR g/persona/día), el peso corporal promedio (BW) según los datos reportados previamente (70 kg para adultos y 24 kg para niños) (Ferré-Huguet y col., 2008).

RfD es una estimación de la exposición diaria a la cual es probable que la población humana esté expuesta sin ningún riesgo apreciable de efectos dañinos lo largo de una vida (Bermudez y col., 2011). Los valores RfD utilizados fueron los reportados por el Sistema Integrado de Información de Riesgo (IRIS) de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA): 3×10^{-4} , 1×10^{-3} , 2×10^{-2} , 1.5, 1.4×10^{-1} , 5×10^{-3} , 3×10^{-3} and 0.3 mg/kg por día para As, Cd, Ni, Cr, Mn, Se, U y Zn, respectivamente. Los valores de RfD para Co, Fe y Cu fueron de 3.0×10^{-4} , 7.0×10^{-1} and 4×10^{-2} Cu mg/kg, respectivamente (Bermudez y col., 2011) y los de Hg y Pb fueron 3×10^{-4} and 4×10^{-3} mg/kg (Huang y col., 2008).

Otro índice importante que se ha tenido en cuenta en este trabajo es el índice de peligros (HI), desarrollado por la EPA para estimar el riesgo potencial para la salud humana a partir de la combinación de elementos. HI se expresa como la suma del HQ para cada elemento (EPA 1989), véase la ecuación 3.

$$HI = HQ1 + HQ2 + \dots + HQ_n \text{ (Ecuación 3)}$$

Cuando el índice de peligro de una mezcla excede el valor de uno, el riesgo potencial de la mezcla puede considerarse motivo de preocupación.

4.2.5. Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de elementos obtenidos en los granos de trigo de origen diferente, se realizó la prueba de ANOVA unidireccional. De forma similar, se utilizó un análisis discriminante para verificar la clasificación de las muestras de grano de trigo según los datos obtenidos. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Statgraphics Centurion® (SAS Institute, Carolina del Norte, EE.UU.). Las diferencias significativas se evaluaron con ANOVA y la prueba de Tukey-Kramer post-hoc, para un $p < 0,05$.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Concentración de elementos tóxicos (As, Cd, Cr, Hg, Pb y U)

La Figura 4.2 se presentan las concentraciones mínimas, máximas y medias de As, Cd, Cr, Hg, Pb y U en muestras de grano de trigo lavadas y no lavadas del Norte, Sur, Oeste y Este de Kazajistán.

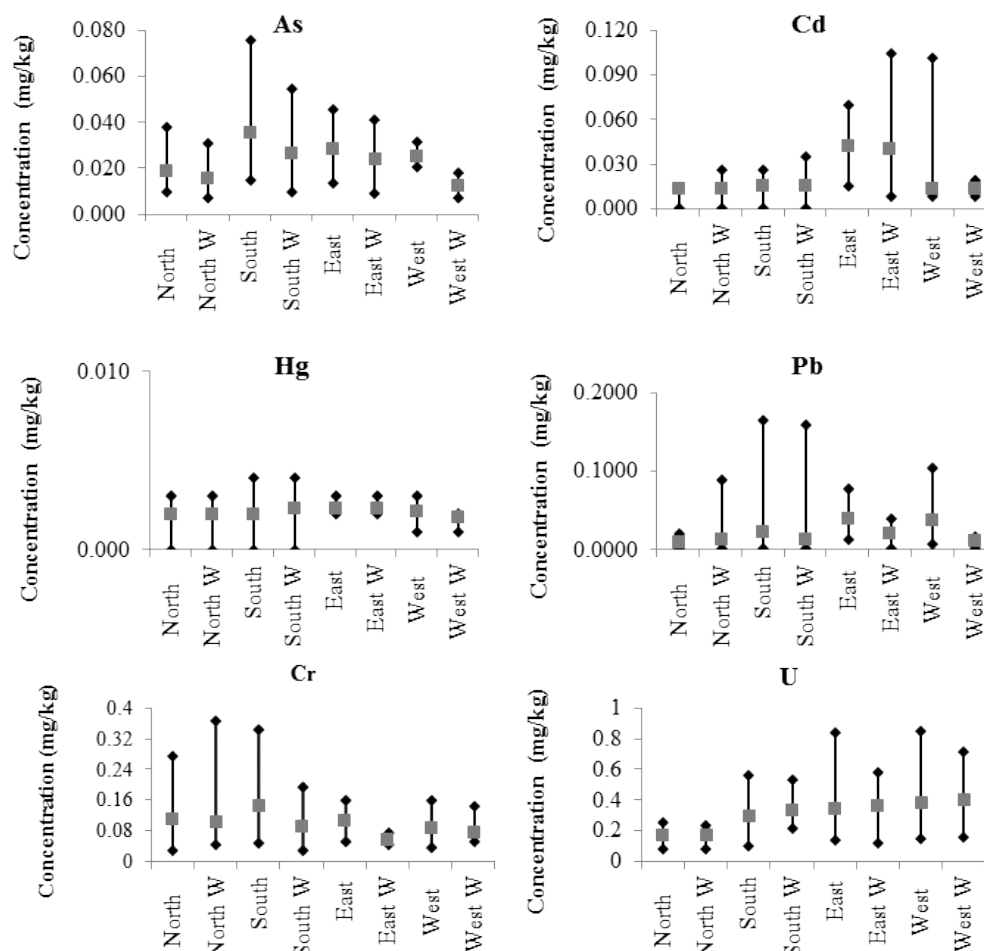


Figura 4.2. Las concentraciones mínimas, máximas y medias de As, Cd, Cr, Hg, Pb y U en muestras de Trigo de Kazajistán

Se observaron diferencias significativas para las concentraciones medias de As, Cd, Cr y Pb en trigo no lavado por área de muestreo pero no se observaron para Hg y U (ANOVA con prueba post-hoc de Tukey-Kramer, $P < 0,05$). La concentración media más alta de As se midió en la zona sur de Kazajistán (0,035 mg/kg). Este resultado podría deberse al mayor número de industrias químicas y de minería-química localizadas en el área (Figura 4.1), como la planta de generación de energía Alma-ata. Otra fuente de As en trigo podría ser el uso de

pesticidas que contienen compuestos de As que pueden ser transportados por el ciclo del agua y absorbidos por la planta de trigo (Murcott 2012). La contaminación también podría derivarse de las plantas de fundición de Cu ubicadas en Zhezkazgan y Balkhash (Zona Central y Sur) ya que estas plantas emiten más del 1% del polvo de Cu y As descargado en la atmósfera (Luganov y col., 2008). En comparación con otros países, las concentraciones medidas de As totales (0,08-0,1 mg/kg) en nuestras de grano de trigo se encuentran dentro de un nivel intermedio. Esto podría indicar que la concentración de As en el suelo es baja, ya que los datos publicados en estudios previos mostraron que, en general, cuando la concentración de As en suelos no contaminados es inferior a 10 mg/kg, la concentración en grano es inferior a 0,05 mg/kg (Zhao y col., 2010).

Al igual que para el As, la concentración media más alta de Cr (0,15 mg/kg) se midió en muestras recogidas del sur de Kazajistán (0,149 mg/kg) y la más baja en muestras del Oeste (0,08 mg/kg). Estos resultados fueron inesperados: ya que se han descrito valores de contaminación con Cr en el Oeste y el norte de Kazajistán, pero nunca en el Sur. La contaminación en el Oeste se explicó por la presencia de dos de las mayores plantas de Cr, KazAzot JSC (Mangistau Oblast) y Aktobe planta JSC (Aktobe). El Comité de Recursos Hídricos del Ministerio de Recursos Naturales y Protección Ambiental del gobierno de Kazajistán asoció a estas plantas la contaminación de Cr en muestras de río y suelo recolectadas cerca de ellas en 2002 (MNREP 2002). La presencia de Cr también se detectó en el pelo de los niños de la ciudad de Pavlodar (Norte) a $0,75 \pm 0,15$ mg/kg (Korogod y col., 2013). Sobre la base de los datos reportados anteriormente y los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se podría decir que la contaminación Cr se ha encontrado a lo largo de todo Kazajistán.

También se observaron elevadas diferencias en las concentraciones de Cd entre las diferentes zonas. Las muestras recogidas en el este tuvieron la concentración media más alta de Cd (Figura 4.2). La contaminación en el trigo puede provenir de las minas de Cu y de las industrias metalúrgicas no ferrosas ubicadas en el este de Kazajistán, ya que los residuos mineros pueden dispersarse fácilmente tanto aguas abajo como colinas abajo a través del agua y el viento (Figura 4.1). Estos resultados concuerdan con los recogidos en el informe de la Comisión Europea en 2012, donde muestras de pescado, pan y cereales tomadas en el este de Kazajistán tenían concentraciones medias de Cd entre 0,02 y 0,03 mg/kg (Bakanov y col., 2012). La región oriental de Kazajistán se caracteriza por una alta emisión de contaminantes a la atmósfera debido a las grandes plantas mineras y procesadoras. Además, hay que resaltar que niveles elevados de Pb, Cu, Zn y otros metales que no son seguros para la salud han sido detectados en muestras ambientales recogidos en esta área (Roza y Meruert, 2014).

Aunque las concentraciones de Pb mostraron diferencias significativas, los niveles medios del Este y Oeste de Kazajistán fueron muy similares 0,038 y 0,037 mg/kg, respectivamente. Estos valores fueron superiores a los medidos en muestras tomadas del norte 0,007 mg/kg y del sur 0,019 mg/kg de Kazajistán. La presencia de Pb y Cd en las muestras de trigo del Este de Kazajistán era un resultado esperado ya que contaminación de estos elementos en muestras de suelo y agua recogidas en esta zona del país ha sido publicada previamente (Beiseyeva y col., 2013). Los niveles de Pb en muestras de agua recogidas cerca de los almacenes de colas y aguas residuales en el depósito de Zyranovsk y la ciudad de Ridder (al Este de Kazajistán) eran de 0,004-0,79 mg/kg.

No se observaron diferencias en las concentraciones entre las áreas de muestreo para Hg y U, esto podría indicar que los granos cultivados en suelos contaminados probablemente no tendrán más Hg que los niveles de fondo (Saha y col., 1970). Además, también podría

darse el caso de que los niveles de Hg en los suelos de las diferentes aéreas donde el trigo se cultivó fuesen similares. Muller y col. (2010) observaron que la cantidad de U aparentemente absorbido por las plantas es proporcional a la concentración en el suelo y que el granito y suelos erosivos, descritos como ricos en U, dieron lugar a una vegetación altamente contaminada con U. Además, también encontraron que todos los productos alimenticios ricos en azúcar, almidón y grasa como granos de cereales y otros generalmente tienen bajas concentraciones de U (0.0008- 0,0019 mg/kg de materia seca) (Müller y col., 2010). Hasta la fecha no se han detectado depósitos de Hg en Kazajistán pero existen depósitos de U situados en diferentes provincias (Chu-Sarysu, Syrdarya, Kazajistán septentrional, Caspio, Balkhash e Ili (Figura 4.1). La producción y procesamiento de U han llevado a la contaminación del suelo y han generado cerca de 106 millones de toneladas de residuos radioactivos, lo que ha provocado serios problemas de salud en la población (EPR, 2008). Sin embargo, cabe señalar que las concentraciones de U en las muestras recogidas para este trabajo de investigación estaban por debajo de la LDD (0.001 mg/kg).

En general, se puede afirmar que las concentraciones de Cd, Hg y Pb en trigo kazajo fueron más bajas que las medidas en China, Suecia, Australia, Irán, Pakistán y Turquía (Bermudez y col., 2008; Saha y col., 1970, Harmankaya y col., 2012, Kirchmann y col., 2009). Según la legislación de Kazajistán, los LM para cereales son 0,2, 0,1, 0,5 y 0,03 mg/kg para As, Cd, Pb y Hg (Reglamento Técnico 2011). Mientras que los LM establecidos en el Reglamento Europeo 1881/2006 son 0,10 mg/kg para Cd y 0,20 mg/kg para Pb. Además, el Codex Alimentarius establece un LM de 0,2 mg/kg para Cd y Pb. Por tanto, en base a la legislación actual de Kazajistán, Europa y FAO, se puede afirmar que las concentraciones de As, Hg, Pb y Cd en la mayoría de las muestras tomadas (excepto para una

muestra recogida en el Este) tenían valores por debajo de los diferentes LM establecido por la legislación.

4.3.2. Concentración de elementos esenciales (Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se y Zn)

En la Figura 4.3 se presentan las concentraciones mínimas, máximas y medias de Co, Cu, Fe, Mn, Se y Zn en muestras de grano de trigo lavadas y no lavadas del Norte, Sur, Oeste y Este de Kazajistán.

Cuando se compararon las concentraciones de cada elemento en muestras no lavadas por área de muestreo, se observaron diferencias significativas para Co, Cu y Se. El Co se obtiene como subproducto de otros elementos como Ni, Ag, Pb, Cu y Fe (Gray y McLaren, 2001) y su concentración en suelos puede variar de 0,05 a 300 mg/kg (Gray y McLaren, 2001). Además, en suelos, situados cerca de depósitos de mineral e de instalaciones de fundición es de esperar mayor concentración, al igual que en suelos situados en lugares con tráfico de carreteras, contaminación industrial y tráfico aéreo (ATSDR, 2004). Sobre la base de esta información y la densidad de población del surde Kazajistán, la concentración media Co más alta se midió en muestras recogidas del Sur y podría ser debido a los procesos antropogénicos. Almaty (una de las ciudades cercanas a la ubicación del sitio de muestreo, al surde Kazajistán) tiene depósitos de metales no ferrosos, tales como Pb, Zn y Cu. Además, también posee depósitos metales raros como W, Sn, Mo y Be (Figura 4.1). Según el Ministerio de Protección Ambiental de Kazajistán, Almaty y Taraz (una ciudad en el surde Kazajistán) pueden ser consideradas como las ciudades más pobladas de Kazajistán (Kazakhstan National Report, 2011).

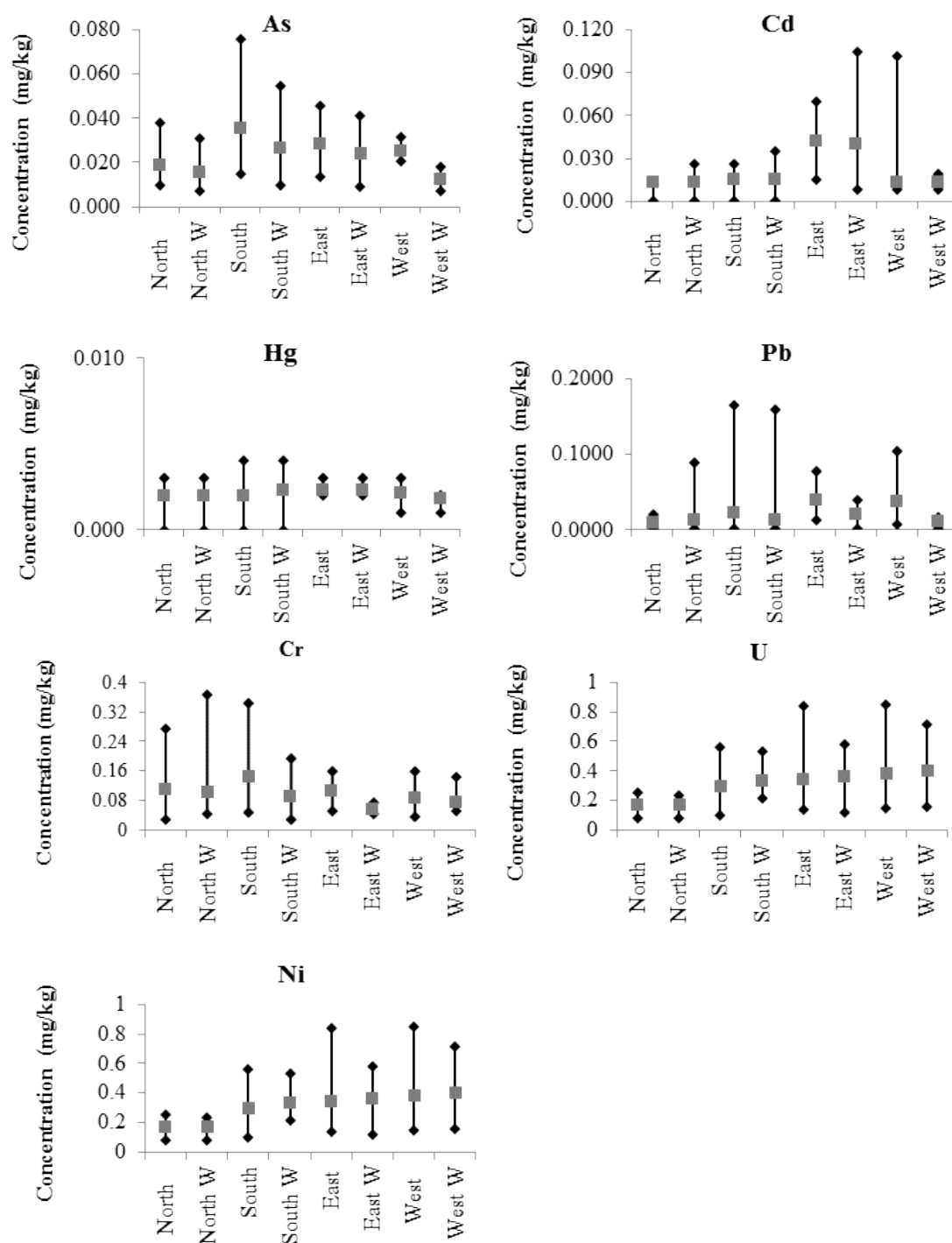


Figura 4.3. Las concentraciones mínimas, máximas y medias de Co, Cu, Fe, Mn, Se y Zn.

Al igual que el Co, la concentración media más alta de Se (0,093 mg/kg) se midió en muestras recogidas en el sur de Kazajistán y la media más baja en muestras recogidas en el este (0,056 mg/kg). Las concentraciones de Se se encontraban entre 0,03 y 0,18 mg/kg. Un nivel similar al reportado en muestras de México (30-200 µg/kg) y en Australia Meridional (70-280 µg/kg) (Karami y col., 2009). Niveles más bajos se han detectado en Argentina (Bermudez y col., 2011) y niveles más altos en Suecia (0,02-0,04 mg/kg) (Kirchmann y col., 2009).

El Cu fue el tercer elemento esencial que mostró una diferencia significativa entre las áreas de muestreo, la mayor concentración media se midió en las muestras recogidas en el Norte (6,58 mg/kg), seguidas por las del Sur (5,88 mg/kg), Este (5,79 mg/kg) y Oeste (5,54 mg/kg). Se pueden encontrar minas de Cu por todo el país (Figura 4.1) lo que podría explicar que los niveles de Cu en el trigo de las diferentes áreas eran similares.

No se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones de Fe, Mn, Ni y Zn y las áreas. Las concentraciones de Fe se encontraron entre 22,0 y 63,0 mg/kg, las de Mn entre 23,1 y 60,7 mg/kg, las de Ni entre 0,85 y 0,1 mg/kg y las de Zn entre 16,1 y 61,5 mg/kg. Las concentraciones de Zn y Fe consisten con las reportadas anteriormente por Morgounov y col. (2006) en trigo procedente de Kazajistán, Tayikistán y Kirguistán (Morgounov y col., 2007). Sin embargo, los niveles de Co y Mn en el trigo kazajo fueron menores que los reportados para Argentina (Bermudez y col., 2011) y Suecia (Kirchmann y col., 2009). Karami y col. observaron que las concentraciones de Cu, Fe y Zn en el grano de trigo se correlacionan positivamente entre sí (Karami y col., 2009). Sin embargo, en el presente estudio esta correlación sólo se observó para Fe y Zn, pero no para Cu. No es la primera vez que la presencia de elementos como Cu, Mn y Zn ha sido investigada en Kazajistán; Su presencia fue confirmada previamente en muestras de suelo, vegetación y

deposición atmosférica las cuales fueron recogidas en la zona central de Kazajistán. En estas muestras se consideró que la fuente principal de contaminación eran las plantas metalúrgicas localizadas en la zona industrial de Karaganda-Temirtau (Vurman y col., 1996). También se ha publicado contaminación de Cu (0,014-0,58 mg/kg) y Zn (0,007-1,08 mg/kg) en muestras de agua recogidas cerca de almacenes de colas y aguas residuales en el depósito de Zyryanovsk y la ciudad de Ridder (Beiseyeva y col. 2013).

4.3.3. Efecto del lavado del grano de trigo en las concentraciones de los elementos

Cuando se compararon las concentraciones de cada elemento en muestras lavadas y no lavadas, se observaron diferencias significativas para As, Co, Cr, Fe y Pb. Para todos estos elementos, las concentraciones en el trigo sin lavar eran más altas que en los granos lavados. Estos resultados podrían indicar que la concentración de estos elementos en el trigo podría verse afectada por fuentes externas de contaminación. Las fuentes de Co, Cr, Fe y Pb pueden estar presentes en la zona ya que como se ha indicado, hay diversas fuentes en Kazajistán (Figura 4.1) y asentarse en las plantas y en los granos de trigo tal y como ya fue notificado previamente por Sengupta y col. (2006). Estos autores han demostrado que el lavado con agua redujo un 23% el contenido de As en arroz crudo (Sengupta y col., 2006) lo que explicaría la baja concentración en el trigo lavado. Por otro lado, según Shi y col. (2013) el As se acumula en todas las partes del trigo y sólo una pequeña porción se encuentra en el grano de trigo (Shi y col., 2013). Del mismo modo, Pb tiene una solubilidad muy baja en el suelo y la planta, por lo tanto el trigo no absorbe mucho Pb (Zhao y col., 2004). Rafiq y col. (2006) también observaron que la principal vía de entrada de Pb a las plantas es a través de la deposición atmosférica. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de Cd y Hg entre los granos lavados y no lavados (Rafiq y col., 2006) ya que la planta los absorbe por las

raíces y no es una deposición superficial. Estudios previos también han indicado datos similares para el Co y Fe indicando que la contaminación de plantas de trigo y del grano de trigo con metales pesados era debida por la deposición atmosférica y la contaminación del tráfico (Zhao y col., 2004; Ekmekyapar y col., 2012).

En base a todo lo anterior, se podría decir que lavar el trigo reduce la concentración de elementos tóxicos tales como As y Pb y elementos esenciales incluyendo Co, Cr y Fe que en ciertos niveles podrían ser peligrosos.

4.3.4. Clasificación de la muestra mediante análisis discriminatorio

Se evaluaron un total de trece elementos en 117; los cálculos se llevaron a cabo empleando las 13 variables. El contenido de elementos pesados y tóxicos se utilizó como descriptor en el análisis estadístico para clasificar las diferentes muestras en base a su origen (Norte, Sur, Este y Oeste) (Figura 4.4). De las 117 muestras de trigo utilizadas para el modelo, 100 (85%) fueron clasificadas correctamente. Las muestras mejor clasificadas fueron las recogidas en el norte (90% de las muestras clasificadas correctamente) y el surnorte (86% de las muestras clasificadas correctamente). Las muestras del Este y del Oeste también fueron clasificadas correctamente pero sólo el 66% de ellas, probablemente debido a que el número de muestras recogido en estas zonas fue bajo, solamente seis en cada caso lo que hace difícil la predicción.

La función obtenida para la clasificación de las muestras fue la siguiente:

$$-75,7185 + 167,507 * As75 + 541,24 * Cd111 - 204,014 * Co59 + 36,0476 * Cr52 + 10,8706 * Cu63 + 0,28932 * Fe56 + 9731,21 * Hg202 + 1,36879 * Mn55 - 58,9439 * Ni60 - 32,254 * Pb208 + 19,4681 * Se78 + 4435,9 * U238 - 0,133602 * Zn66$$

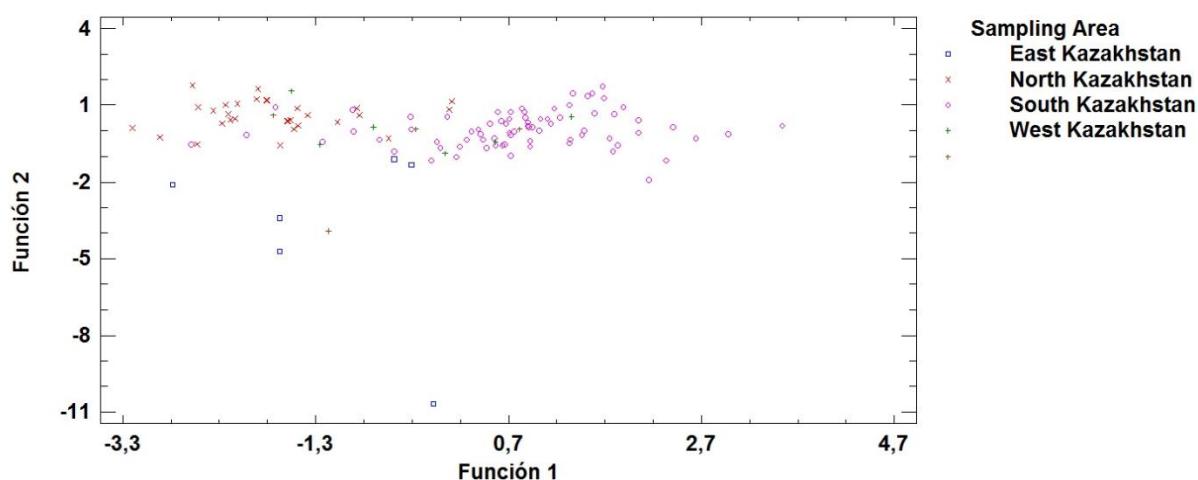


Figura 4.2. Análisis discriminante de las muestras de Trigo

4.3.5. Ingesta diaria de elementos tóxicos y esenciales por parte de la población kazaja.

Las HQ de cada elemento debido al consumo de trigo se calcularon usando la concentración media para trigo no lavado y lavado en las diferentes áreas de Kazajistán. Los resultados se resumen en la Tabla 4.2. Los valores de HQ para los consumidores de Kazajistán mostraron el siguiente orden decreciente de riesgo de cáncer $Cr > U > Pb > Hg > Cd > Se > Ni > Fe > Co > Mn > As > Zn$ y Cu . Hay que resaltar que los HQ de Cu , Zn , Co y Mn calculados con la concentración media obtenida en trigo no lavado y lavado dieron valores superiores a uno lo que indica un riesgo para la población. Se observó que la HQ para As fue sólo superior a uno cuando se emplearon valores de trigo sin lavar, por lo que el efecto del lavado del trigo es notable y podría afectar la salud del consumidor. Según la legislación actual, las diferentes especies de As (arsenobetaina (AsB), dimetilarseniato (DMA), monometilarsonato (MMA), arsenito ($As(III)$) y arseniato ($As(V)$) necesitan analizarse en muestras de arroz pero no es así para el trigo. Los valores de HQ se calcularon con las concentraciones obtenidas en muestras de trigo recogidas en las cuatro zonas de Kazajistán

(Norte, Sur, Este y Oeste). Para aquellos elementos donde la HQ es mayor de uno no se observaron diferencias entre las áreas (Tabla 4.2) y tampoco se observaron diferencias cuando se compararon los valores de HQ para muestras lavadas y no lavadas; Se obtuvieron valores similares en ambos casos (Tabla 4.2). Los resultados de HQ durante este estudio fueron similares a los obtenidos en China y Argentina a pesar de que en Kazajistán (820 g por día) se consume mayor cantidad de trigo que en China (144 g para un adulto del rural y 74 g para un adulto en general (Huang y col., 2008)) y que en Argentina (250 g por día (Bermudez y col., 2011)) Cuando se compararon los resultados para adultos y niños, se encontró que la exposición en los niños era ligeramente inferior que en adultos.

HI se calculó con el fin de evaluar el potencial global de los efectos no carcinógenos de más de un elemento. Los valores de HI para adultos y niños kazajos fueron mayores de uno en todos los casos (trigo del Norte, Sur, Este y Oeste) (Tabla 4.2). Cabe señalar que el método de cálculo de HI no tiene en cuenta las interacciones entre los componentes de la mezcla a pesar de que pueden tener efectos sinérgicos (Sharon y col., 2004). Los valores obtenidos para la población kazaja (7,81 media de adultos y 7,51 media para niños) fueron mayores que los reportados para las poblaciones chinas (Huang y col., 2008) y argentinas (Bermudez y col., 2011). Otros trabajos chinos reportaron HI similares a los obtenidos durante este trabajo de investigación (Zheng y col., 2007) siendo el total de metales consumidos a través de verduras cultivadas cerca de una planta de Zn de 5.79-9.90 y 7.6-13.0 para adultos y niños respectivamente (Zheng y col., 2007). Sobre la base de los valores de HQ y HI obtenidos durante este estudio de investigación, puede considerarse que existen motivos de riesgos para población de Kazajistán como consecuencia del consumo de trigo. La ingesta estimada de elementos tóxicos y esenciales que se realizó en el presente estudio no incluye la contribución de otros alimentos podrían dar lugar como consecuencia de estar ellos también contaminados

es por ello que se considera importante que estudios futuros deberían centrarse en evaluar los niveles de elementos tóxicos y esenciales en otros alimentos tales como la carne, la leche, las verduras, el pescado, los huevos, el agua de mesa y el aire que consume la población kazaja para obtener una visión más general. También debería investigarse la ocurrencia de enfermedades asociadas al consumo de elementos tóxicos y esenciales, y la contribución de diferentes fuentes a la contaminación de metales pesados en el sistema suelo-grano de esta zona.



Tabla 4. 2. Valores de los cocientes de riesgo (HQ) y del índice de riesgo (HI) calculados para el trigo sin lavar

	Kazajistán		Sur		Norte		Este		Oeste	
	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños
As	1,19	1,15	0,73	0,71	1,40	1,34	1,11	1,07	1,00	0,96
Cd	0,19	0,19	0,16	0,16	0,18	0,17	0,50	0,48	0,16	0,15
Hg	0,09	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Pb	0,06	0,06	0,02	0,02	0,06	0,06	0,11	0,11	0,11	0,11
Cr	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Fe	0,67	0,67	0,66	0,63	0,69	0,66	0,63	0,60	0,62	0,60
Cu	1,76	1,69	1,93	1,85	1,71	1,64	1,70	1,63	1,62	1,56
Zn	1,31	1,26	1,29	1,24	1,32	1,27	1,48	1,42	1,06	1,02
Co	1,06	1,02	0,95	0,91	1,14	1,09	0,62	0,60	1,07	1,03
Mn	1,06	1,02	1,06	1,02	1,09	1,04	0,83	0,79	0,96	0,92
Se	0,19	0,18	0,15	0,14	0,22	0,21	0,13	0,13	0,17	0,16
U	0,0016	0,0015	0,0003	0,0003	0,0011	0,0011	0,000	0,0000	0,0000	0,0000
Ni	0,21	0,20	0,22	0,22	0,21	0,21	0,10	0,09	0,17	0,17

	Kazajistán		Sur		Norte		Este		Oeste	
HI	7,81	7,53	7,27	6,98	8,10	7,78	7,30	7,01	7,03	6,75



Tabla 4.3. Valores de los cocientes de riesgo (HQ) y del índice de riesgo (HI) calculados para el trigo lavado

	Kazajistán		Sur		Norte		Este		Oeste	
	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños
As	0,90	0,86	1,05	1,00	0,61	0,61	0,94	0,91	0,49	0,47
Cd	0,19	0,19	0,62	0,59	0,17	0,16	0,47	0,45	0,16	0,15
Hg	0,11	0,10	0,09	0,09	0,17	0,16	0,09	0,09	0,08	0,07
Pb	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03
Cr	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,001
Fe	0,59	0,57	0,59	0,57	0,59	0,57	0,56	0,53	0,61	0,59
Cu	1,79	1,72	1,73	1,66	1,95	1,87	1,92	1,84	1,55	1,49
Zn	1,32	1,27	1,33	1,27	1,32	1,27	1,46	1,40	1,06	1,02
Co	0,97	0,93	1,04	1,00	0,85	0,82	0,97	0,93	1,02	0,98
Mn	1,08	1,04	1,10	1,06	1,09	1,05	0,89	0,85	1,00	0,96
Se	0,19	0,18	0,21	0,21	0,15	0,14	0,14	0,14	0,16	0,16
U	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

	Kazajistán		Sur		Norte		Este		Oeste	
Ni	0,20	0,20	0,20	0,19	0,24	0,23	0,10	0,09	0,19	0,19
HI	7,38	7,09	8,00	7,69	7,16	6,90	7,57	7,27	6,36	6,11



4.4. Conclusiones

La concentración de elementos tóxicos (As, Cd, Cr y Pb) y esenciales (Co, Cu y Se) en el trigo cultivado en diferentes zonas de Kazajistán (Norte, Sur, Este y Oeste) dependía del área de cultivo. El análisis de discriminador permitió clasificar más del 80% de las muestras recogidas del Norte y del Sur con éxito ya que en general, las concentraciones medias y máximas de la mayoría de los elementos (As, Cd, Pb, Cr, Co, Mn, Zn, Se y U) fueron mayores en las muestras recogidas en el Sur. A partir de los resultados obtenidos se puede decir que la concentración de los elementos investigados tóxicos y esenciales en muestras de trigo tomadas de Kazajistán muestran una clara correspondencia con las actividades mineras e industriales del país.

Con respecto a los criterios nacionales de seguridad de los alimentos, el contenido de los elementos tóxicos y esenciales no excedió las legislaciones Kazaja ni europea ni las recomendaciones del Codex Alimentarius. Sin embargo, los valores de HQ para Cu, Zn, Co y Mn fueron superiores a 1, indicando que debe prestarse atención a los riesgos potenciales para la salud de los elementos del consumo de grano de trigo. HI de elementos tóxicos y esenciales también fueron superiores a 1 para adultos y niños kazajos. Estos valores indican que los riesgos de consumo de trigo por la población de Kazajistán debe ser motivo de preocupación. La ingesta estimada de sustancias tóxicas y elementos del presente estudio no incluye la contribución de otros alimentos que pueden constituir una contaminación adicional fuentes para la población de Kazajistán.

4.5. Referencias

Abbas, G.A., Khan, M.Q., Khan, M.J., Tahir, M., Ishaque, M., Hussain, F. (2011). Nutrient uptake, growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by manganese application. *Pakistan Journal of Botany*, 43, 607–616

ASRARFCA (2013), Analytical Service of Rating Agency of the Regional Financial Center of Almaty City. Analysis of crop Industry August 2013, 3-57 (in Russian)

ATSDR; Agency for toxic substances and disease registry U.S. (2004) Department of Health and Human Services, Public Health Service. Toxicological profile for cobalt. Atlanta, GA

Bakanov, S.A., Zhamanshina, M.G., Kasyimhanova, G.E., Syitenko, II., Kuzmitskaya, E.M. (2012). Character of contamination with toxic elements of food in the East Kazakhstan region. *Health and Disease*, 6, 5-7 (in Russian)

Beiseyeva, G., Abuduwali, J. (2013) Migration and accumulation of heavy metals in disturbed landscapes in developing ore deposits, East Kazakhstan. *Journal of Arid Land*, 5, 180–187

Bermudez GMA, Jasan R, Pla R, Pignata LM (2011) Heavy metal and trace element concentrations in wheat grains: Assessment of potential non-carcinogenic health hazard through their consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 193, 264–271

Brininstool M (2010) Minerals Yearbook. Kazakhstan. United States Department of the Interior. United States Geological Survey. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/country/2010/myb3-2010-kz.pdf> Accessed October 2013

Dixon, J., Braun, H.J., Kosina, P., Crouch, J.H. (2009) Wheat facts and futures. Cimmyt. Mexico

Ekmekyapar, F., Sabudak, T., Seren, G. (2012) Assessment of heavy metal contamination in soil and wheat (*Triticum Aestivum* L.) plant around the Corlu–Cerkezkoy highway in Thrace region. *Global Nest Journal*, 14, 496–504

EPR, Environmental Performance Reviews (2008). Kazakhstan. Second Review. United Nations. New York and Geneva, 131–136

Ferré-Huguet, N., Martí-Cid, R., Schuhmacher, M., Domingo, J.L. (2008). Risk assessment of metals from consuming vegetables, fruits and rice grown on soils irrigated with waters of the Ebro River in Catalonia, Spain. *Biological Trace Element Research*, 123, 66–79.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2000) Asian wheat producing

countries, Kazakhstan. <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/field/Wheat/asia/kazakhstan.htm> Accessed May 2014

Gray, C.W., McLaren, R.G. (2001) Cadmium concentrations in some New Zealand wheat grain. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 29, 125–136.

Harmankaya, M., Özcan, M.M., Gezgin, S. (2012) Variation of heavy metal and micro and macro element concentrations of bread and durum wheats and their relationship in grain of Turkish wheat cultivars. *Environmental Monitoring Assessment*, 184, 5511–5521.

Heaven, S., Ilyushchenko, M.A., Tanton, T.W., Ullrich, S.M., Yanin, E.P. (2000) Mercury in the River Nura and its floodplain, Central Kazakhstan: I. River sediments and water. *Science of the Total Environment*, 260, 35–44.

Huang, M., Zhoub, S., Sun, B., Zhao, Q., Huang, M., Zhou, S., Sun, B., Zhao, Q. (2008) Heavy metals in wheat grain: Assessment of potential health risk for inhabitants in Kunshan, China. *Science of the Total Environment*, 40, 54–61.

Iztileu, A.L., Grebeneva, O., Otarbayeva, M., Zhanbasinova, N., Ivashina, E., Duisenbekov, B. (2013) Intensity of Soil Contamination in Industrial Centers of Kazakhstan, CBU International Conference on Integration and Innovation in Science and Education, 7–14 April, 2013 (Prague, Czech Republic), 374–380.

Kaminskaya, G.A. (2007) Property of heavy metal distribution in crops. Grain and grain products 3, 36-37 (in Russian)

Karami, M., Afyuni, M., Khoshgoftarmanesh, A.H., Papritz, A., Schulin, R. (2009) Grain Zn, iron, and copper concentrations of wheat grown in central Iran and their relationships with soil and climate variables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10876–10882.

Kazakhstan National Report, National report on the state of the environment in the Republic of Kazakhstan in 2010 (2011) the Ministry of Environment of the Republic of Kazakhstan, the Republican State Enterprise "Kazakh Research Institute of Ecology and Climate," 2011 (in Russian)

Korogod, N.P. (2011) Peculiarity of heavy metal accumulation (Hg, Se, Zn) in the hair of children in Pavlodar city, Kazakhstan. *Biological Sciences of Kazakhstan*, 3, 3-93 (in Russian)

Korogod, N.P., Shaymardanova, B.H., Asyilbekova, G.E. (2013). Biochemical aspects of development of industrial center in the north-east of Kazakhstan. *International Youth Congress of "Geochemistry of living matter"*. Dedicated to the 150th anniversary of V.I. Vernadsky, 1863, 144-146 (in Russian)

Luganov, V.A., Sazhin, E.N., Kilibaev, E.O. (2008) Feature of dust of copper smelting enterprises in Kazakhstan. *Abstracts of the International Conference of "Protection of the environment from industrial dust"* Almaty 22-27 (in Russian)

Mining Watch Canada (2012) Potential toxic effects of chromium, chromite mining and ferrochrome production: A literature review. *Chromium, Chromite Mining and Ferrochrome Production* 1–43

MNREP, Committee for Water Resources of the Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of Government of Kazakhstan (2002) Identification of Priority Issues in Seven Major River Basins in Kazakhstan, Problem Identification and Prioritization workshop in Atyrau for the Ural-Caspian basin, Workshop Protocol 3–9

Müller R, Anke M, Betz I, Witte H, Schilling C, Knoth E (2010) Uranium transfer in the food chain from soil to plants, animals and man. *Proceedings of the 30 Scientific symposium of industrial toxicology*, 43, 1–23.

Morgounov A, Gomez-Becerra HF, Abugalieva A, Dzhunusova M, Yessimbekova M, Muminjanov H, Zelenskiy Y, Ozturk L, Cakmak I (2007) Iron and Zn grain density in common wheat grown in central Asia. *Euphytica*, 155, 193–203.

Murcott, S. (2012) *Arsenic Contamination in the World, An international Sourcebook*, IWA Publishing Alliance House, 145–146.

Ramazanov, R.H., Kydyrbaeva, M. (2011) Accumulation of heavy metals in soils and plants of areas adjacent to industrial facilities. *Soil Science and Agricultural Chemistry*, 1, 1-100 (in Russian)

Roza, K.T., Meruyert, B.B. (2014) Air pollution as a factor of lung cancer in Kazakhstan. *Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety*, 8, 533-539.

Saha, J.G. Lee, Y.W. Tinline, R.D. Chinn, S.H.F. Austenson, H.M. (1970). Mercury residues in cereal grains from seeds or soil treated with organomercury compounds. *Canadian Journal of Plant Science*, 50, 597-599.

Sengupta, M.K., Hossain, M.A., Mukherjee, A., Ahamed, S., Das, B., Nayak, B., Pal, A., Chakraborti, D. (2006). Arsenic burden of cooked rice: Traditional and modern methods. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1823-1829.

Sharon, W., Hugh, H., Hana, P. (2004) *Guidance Manual for the Assessment of Joint Toxic Action of Chemical Mixtures*, U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service, 1–107

Shi, G.L., Lou, L.Q., Zhang, S., Xia, X.W., Cai, Q.S. (2013) Arsenic, copper, and Zn contamination in soil and wheat during coal mining, with assessment of health risks for the inhabitants of Huaibei, China. *Environ Science and Pollution Research*, 20, 8435–8445.

Technical Regulations of Customs Union (2011) 021/2011 on food safety, established by Commission Decision Customs Union December 9, 880

US EPA (1989) *Risk Assessment Guidance for Superfund, Human Health Evaluation Manual (Part A). Interim Final, vol. I.* Washington (DC). United States Environmental Protection Agency. Report number EPA/540/1-89/002

Vurman, V.I., Pribylovskiy, V.S. (1996) The main results of environmental and geochemical Survey of the industrial enterprises of Karaganda region, Modern problems of ecology in Central Kazakhstan. Materials of Republican Scientific-Practical Conference dedicated to the 25th anniversary of the University named after EA Buketov, Karaganda, 198–201 (in Russian)

Zhao, F.J., Adams, M.L., Dumont, C., McGrath, S.P., Chaudri, A.M., Nicholson, F.A., Chambers, B.J., Sinclair, A.H. (2004). Factors affecting the concentrations of lead in British wheat and barley grain. *Environmental Pollution*, 131, 461-468.

Zhao, FJ., Stroud, J.L., Eagling, T., Dunham, S.J., McGrath, S., Shewry, P.R. (2010). Accumulation, Distribution, and Speciation of Arsenic in Wheat Grain. *Environmental Science and Technology*, 44, 5464-5468.

Zheng, N., Wang, Q., Zheng, D. (2007) Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao Zn plant in China via consumption of vegetables. *Science of the Total Environment*, 383, 81–89.



Capítulo 5: Presencia de micotoxinas en Talkan un alimento a base de cereales tradicional para la población turca





5.1 Introducción

Los hongos producen unos sustancias que se denominan toxinas y en aparentemente no tienen ninguna función en el metabolismo normal de los hongos. La aflatoxina fue la primera micotoxina se detectó y fue la causante de la intoxicación masiva de más de 100.000 pavos en Inglaterra (Nesbitt y col., 1962). Desde entonces, se han reportado más de 400 micotoxinas diferentes en todo el mundo, las cuales tienen pesos moleculares entre 50 y 500 Da (Betina, 1984). Las micotoxinas tienen efectos negativos sobre el organismo que dependen del tipo de micotoxina, su concentración, la ruta, la duración de la exposición, el modo de acción de la toxina, la especie animal, el sexo, la edad y el peso corporal.

Las aflatoxinas, donde se incluyen la B1, la B2, la B3, la B4, la G1 y la G2, se encuentran entre los principales tipos de micotoxinas y son producidas principalmente por hongos *A. flavus* y *A. parasiticus*. Afectan a la síntesis de proteínas debido a su capacidad para unirse al ADN (Raisuddin, 1993) y son carcinógenos extremadamente potentes en todas las especies animales investigadas, más recientemente, han sido clasificadas como grupo Uno por el Organismo Internacional para la Investigación sobre el Cáncer las clasificó como Grupo Uno por ser carcinógenas para los seres humanos (IARC, 2012). Las fumonisinas son otro grupo de micotoxinas producidas principalmente por hongos del género *Fusarium* (Marin y col., 2013). Su concentración en alimentos depende de soluciones alcalinas, agua y temperatura. En cambio en cultivos agrícolas su concentración depende de las condiciones climáticas, latitud, así como del genotipo y otras enfermedades fúngicas (Soriano y Dragacci, 2004). Los efectos tóxicos conocidos de las fumonisinas en los sistemas de mamíferos incluyen actuar como un agente cancerígeno, hepatotóxico y causante en la leucoencefalomalacia (Dutton, 1996; Kellerman y col., 1990). Los tricotecenos son un grupo de micotoxinas sesquiterpenoides que se detectan comúnmente en los alimentos e incluyen

algunos de los inhibidores más potentes de la síntesis de proteínas eucarióticas interfiriendo en las etapas de iniciación, alargamiento y terminación (D'mello y col., 1999, EMAN, 2003). El desoxinivalenol es un tricoteceno comúnmente conocido como la vomitoxina, es producido principalmente por *F. graminearum* y hongos patógenos de *F. culmorum* que crecen en los cereales (Marin y col., 2013). Se han notificado efectos adversos para la salud del desoxinivalenol después de una administración aguda, a corto y a largo plazo. Es responsable de una disminución en el consumo de alimentos (anorexia) y emesis (vómitos). En 1993, el IARC colocó deoxinivalenol en el grupo 3, no clasificable en cuanto a su carcinogenicidad a los seres humanos (IARC, 1993). La zearalenona, anteriormente conocida como toxina F-2, es una micotoxina estrogénica no esteroide que es biosintetizada a través de una vía de policétidos por una variedad de hongos *Fusarium*, incluyendo *F. graminearum* (*Gibberella zeae*), *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* y *F. semitectum*, que son hongos comunes del suelo encontrados en países templados y cálidos (Bennett y Klich, 2003). Estos hongos contaminan el maíz y, en menor medida, la cebada, la avena, el trigo, el sorgo, el mijo y el arroz. La ocratoxina A es un metabolito de diferentes especies de hongos, incluyendo *A. alliaceus*, *A. auricomus* y *P. verrucosum* (Bayman y col., 2002; Larsen y col., 2001; Pitt, 1987). Se asocia con nefropatía en todos los animales estudiados hasta la fecha y se ha comprobado que es hepatóxica, inmunosupresora, y teratogénico (Beardall y Miller, 1994; Pléstina, 1996; Schlatter y col., 1996).

Desde 1962, se han detectado micotoxinas en países de todo el mundo. En particular, las aflatoxinas se han confirmado en muestras de piensos y alimentos recogidas en Europa (Marin y col., 2013), Japón (Taguchi y col., 1995), Brasil (Caldas y col., 2002) y Marruecos (Zinedine y col., 2006). La incidencia de aflatoxinas solo en arroz ha sido documentada en estudios realizados en más de 10 países diferentes que incluyen Reino Unido, Suecia, Brasil,

Canadá, Malasia, India y Nepal (Lim y col., 2015). Entre 1993 y 1997 se produjo un brote de micotoxicosis en masa con fatales consecuencias en cerdos del sur de Kazajistán (Remele 2011). Un brote similar ocurrió con fumonisinas presentes en cereales y alimenticios cuya base son los cereales en países asiáticos como China (Guan y col., 2011) y Rusia (Tutelyan y col. 2013). Datos sobre la presencia de deoxinivalenol en muestras recogidas de Marruecos, Italia, España y Túnez han sido publicados por Serrano y col. (2012). En un estudio llevado a cabo en Rusia en un total de 2166 muestras (trigo, centeno, cebada y maíz de cosechadas entre 1989 y 2002) el deoxinivalenol fue detectado en un 69% de las muestras siendo la región de Krasnodar la más endémica de *Fusarium* (Tutelyan y col., 2013). Al igual que para las anteriores micotoxinas, la presencia de zearalenona se han detectado en productos alimenticios a base de cereales y cereales recogidos en una amplia gama de países tales como Brasil (Caldas y col., 2002), Marruecos, Italia, España y Túnez (Serrano y col. Al., 2012). Una revisión muy completa sobre la presencia de zearalenona fue realizada por Zinedine y col. (2007) donde se presentan datos de detección de zearalenona en países de Europa, África, América y Asia. Esta revisión incluye datos de China, país fronterizo con Kazajistán. Además, en otro estudio llevado a cabo en China la zearalenona estaba presente en un 20% de muestras de maíz y maíz procesados indicando la posible situación de la micotoxina en la zona (Pei y col., 2013). Hasta la fecha, no se han publicado datos sobre la presencia de micotoxinas tales como fumonisinas, deoxinivalenol en cereales ni en alimentos a base de cereales consumidos por la población Kazaja.

Debido a su toxicidad, se han ido desarrollado gradualmente reglamentos que establecen niveles máximos de micotoxinas en alimentos y piensos. En 2003, un total de 100 países tenían reglamentos específicos para estos compuestos (FAO, 2004). Hasta la fecha existen LM para 13 micotoxinas diferentes o grupo de micotoxinas en productos alimenticios

a base de cereales. Entre estas micotoxinas se incluyen las aflatoxinas, las fumonisinas, el desoxinivalenol, los tricotecenos, la zearalenona y la ocratoxina A. En Europa, los LM se incluyen en el Reglamento 1126/2007, mientras que los de la Unión Aduanera Rusia-Kazajistán -Bielorrusia están cubiertos por la Política Técnica Reglamento de la Unión Aduanera Rusia- Kazajistán -Bielorrusia sobre la seguridad de los granos. La Tabla 5.1 recoge los LM establecidos para los cereales en Europa y la Unión Aduanera Rusia- Kazajistán -Bielorrusia.

Tabla 5. 1. Límites Máximos de micotoxinas permitidos en cereales y alimentos a base de cereales

	Russia-Kazakhjistan-Bielorusia	Europa
Aflatoxina B1	5	10
Fumonisin B1 and B2	4000	200
Deoxinivalenol	700	200
Zearalenone	200	20
Ochratoxina A	5	0.50

El Talkan es un plato tradicional comúnmente consumido por la gente turco-mongol de Siberia del sur y Asia central. El plato se basa en harina de granos tostados (mijo, cebada, trigo, avena o maíz) que se trituran entre dos piedras planas y se prepara con leche caliente o agua, sal, mantequilla y azúcar. Es especialmente consumido por sus propiedades nutricionales, siendo una fuente de vitaminas E y B, tiene un alto contenido de calorías y una combinación racional de carbohidratos simples y complejos que lo hace fácilmente digerible (Tarasovskaya, 2012).

Teniendo en cuenta la toxicidad de las micotoxinas, su frecuencia de detección en cereales y alimentos a base de cereales, la falta de información sobre su presencia en alimentos y cereales de Kazajistán y que el Talkan es un producto tradicional a base de cereales que se consume frecuentemente, el objetivo de este trabajo es investigar la presencia de micotoxinas en la harina de Talkan y evaluar el posible riesgo para la salud derivado de su consumo por la población kazaja.

5.2 Material y métodos

5.2.1 Productos químicos, reactivos y soluciones madre

Los reactivos químicos y cromatográficos utilizados fueron de grado analítico. El deoxinivalenol, la ocratoxina A, la zearalenona, las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 se compraron a Sigma - Aldrich (Steinheim, Alemania). Antes del uso, se prepararon las soluciones madre (20 - 200 mg/ml) en acetonitrilo y se almacenaron a -20°C en oscuridad. El agua desionizada se obtuvo utilizando un sistema Milli-Q (Millipore Corporation, EE.UU.).

5.2.2 Muestra de orígenes

Un total de 50 muestras de Talkan se compraron en los mercados locales de varias ciudades de Kazajistán (Figura 5.1).



Figura 5.1. Áreas de muestreo, áreas mineras y actividades industriales

5.2.3 Análisis de micotoxinas por kits ELISA

Las micotoxinas se determinaron en las muestras de harina de Talkan haciendo primero un cribado de ellas con cinco kits de ELISA obtenidos de EuroProxima (Arnhem, Países Bajos). Cada kits permitió analizar un grupo o una micotoxina; aflatoxinas (B1, B2, G1 y G2), ocratoxina A, zearalenona, fumonisinas y desoxinivalenol. Las muestras se analizaron por duplicado y siguiendo las instrucciones del fabricante.

5.2.3.1. Aflatoxinas

Brevemente, se añadieron 9 ml de metanol al 80% a 3 g de muestra. La mezcla se agitó durante 30 minutos y se centrifugó durante 15 minutos y a 1509 x g (Ortoalresa Digicen 21, Madrid, España), después se añadieron 50 µl del sobrenadante diluido a cada pocillo de la placa ELISA. La absorbancia se leyó a 450 nm usando un lector de microplacas de Sistemas Digitales y Analógicos (Digital Analog System, Modelo A3, Roma, Italia). El LDD era 0,5 µg/kg para las aflatoxinas.

5.2.3.2 Fumonisinas

Brevemente, se añadieron 9 ml de metanol al 80% a 3 g de muestra. La mezcla se agitó durante 30 minutos y se centrifugó durante 15 minutos y a 1509 x g (Ortoalresa Digicen 21, Madrid, España), después se añadieron 50 µl del sobrenadante diluido a cada pocillo de la placa ELISA. La absorbancia se leyó a 450 nm usando un lector de microplacas de Sistemas Digitales y Analógicos (Digital Analog System, Modelo A3, Roma, Italia). El LDD era 2 µg/kg para fumonisinas.

5.2.3.3 Zearalenona

A 5 g de muestra se le añadieron 20 ml de acetonitrilo al 84%. La mezcla se agitó durante 30 minutos y se centrifugó durante 15 minutos a 1509 x g. A continuación se añadieron 50 µl del sobrenadante diluido a casa pocillo de la placa ELISA para la detección de zearalenona. La absorbancia del extracto final se leyó a 450 nm y el LDD del método era de 8 µg/kg.

5.2.3.4 Deoxinivalenol

A 1 g de muestra de cereal se añadieron 19 ml de agua Milli-Q, al igual que para los otros kits de Elisa, se agitó la mezcla durante 30 min y se centrifugó 15 min a 1509 x g, 50 µl del sobrenadante se transfirió al pocillo correspondiente de la placa ELISA para posteriormente leer la absorbancia a 450 nm, el LDD era de 1,5 µg/kg.

5.2.3.5 Ocratoxina A

Brevemente, se añadieron 10 ml de ácido fosfórico y 20 ml de diclorometano a 5 g de muestra. Después de agitar durante 10 min, la mezcla se centrifugó durante 15 min a 1509 x g, se filtraron 12 ml de la fase inferior y se concentraron con gas nitrógeno. El residuo se disolvió en 1,5 ml de tampón y 50 µl del extracto resultante se transfirió al pocillo correspondiente de la placa ELISA. Se leyó la absorbancia a 450 nm y la LDD de este kit de ELISA fue de 1 µg/kg.

5.2.4 Análisis de micotoxinas por HPLC-MS/MS

Las muestras con resultados positivos obtenidos con los kits ELISA fueron enviadas a la Unidad de Espectroscopia Molecular de Servicios Centrales (SAI) de la Universidad de A Coruña, donde se almacenaron a 4°C hasta su análisis. El mismo procedimiento se utilizó para el análisis simultáneo de aflatoxina B1, ocratoxina A, zearalenona, fumonisina B1 y B2 y desoxinivalenol en la mezcla de harina de cereales. El disolvente de extracción fue una mezcla metanol:agua (80:20). Los extractos resultantes se almacenaron a -20°C hasta su análisis por HPLC-MS/MS (API 3200, Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.).

Las micotoxinas se separaron en una columna de HPLC Luna C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm) de Phenomenex (Torrance, CA, EE.UU.) usando una mezcla de solvente A (acetato de amonio 5 mM en agua) y solvente B (acetato de amonio 5 mM en metanol) en modo de gradiente a caudal de 1 ml /min. La temperatura de la columna se fijó a 50°C durante el análisis y el volumen de inyección fue de 20 µl. Cada micotoxina se identificó en base a dos transiciones múltiples de reacción (MRM) y el tiempo de retención.

5.3 Resultados y discusión

La tabla 5.2. recopila los valores de concentración media, mínima, máxima (µg/kg) y porcentaje de muestras positivas medidas obtenidos en los análisis llevados a cabo por el método de HPLC-MS/MS el cual permitía el análisis simultaneo de aflatoxina B, ochratoxina A, zearalenona, fumonisina B1 + B2 y deoxynivalenol. Hay que resaltar que solo se analizaron las muestras que dieron resultados positivos con los diferentes kits de ELISA empleados.

Tabla 5. 2. Concentración media, mínima, máxima ($\mu\text{g/kg}$) y porcentaje de muestras positivas medidas en muestras de Talkan por HPLC-MS/MS.

	Media	Mínima	Máxima	Muestras positivas (%)
Aflatoxina B1	3,0	3,0	3,0	2
Ochratoxina A	7,3	1,4	22,4	18
Zearalenona	201	1,3	654	20
Fumonisina B1 + B2	N/A	N/A	N/A	N/A
Deoxynivalenol	125,3	1,9	417	16

N/A: No aplica

5.3.1 Aflatoxinas

Los análisis realizados con el método basado en ELISA indicaron que 10 muestras de Talkan eran positivas a la presencia de una o más aflatoxinas. Sin embargo, el análisis HPLC-MS/MS de estas 10 muestras indicó que solamente una muestra era positiva para aflatoxina (Tabla 5.2), en particular, para la aflatoxina B1 ($2,9 \mu\text{g/kg}$). La disparidad entre los dos métodos podría deberse a la diferencia en los LDDs, ya que el método de ELISA tiene un LDD de 0,5 y el de HPLC-MS/MS un LDD de $0,9 \mu\text{g/kg}$. Además, hay que resaltar que el método HPLC-MS/MS sólo podía analizar la aflatoxina B1, y el inmunoensayo aflatoxina B1, B2, G1 y G2.

La baja incidencia de aflatoxina B1 en muestras de Talkan (2%, Tabla 5.2) está en correlación con los datos publicados en muestras de harina de trigo de China, donde sólo una muestra de 348 contenía aflatoxina B1 (Lui y col., 2015). Sin embargo, es notable que en muestras de arroz recolectadas en el mismo país (China), la incidencia de aflatoxinas fue mucho mayor, con el 64% de las muestras de arroz contaminadas con aflatoxina B1 ($n = 370$).

Según el informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) de 2007, que analizó 34326 productos alimenticios, la aflatoxina B1 estaba presente en los frutos secos (almendras, anacardos, cacahuetes), higos, maíz, especias y alimentos para bebés. Ciertamente, el incidente de aflatoxina B1 depende de las condiciones climáticas y el tipo de cereal ya que estos factores afectan el crecimiento de hongos.

Hay que resaltar que a pesar la frecuencia de detección de aflatoxina B1 fue baja para las muestras de Talkan (2%), la concentración medida fue 29 veces superior a la máxima permitida por el Reglamento de la UE (0,1 µg/kg) pero dentro de los LM establecidos en la legislación kazaja (5 µg/kg). La aflatoxina B1 se considera una de las micotoxinas más tóxicas, se ha demostrado que es un hepatocarcinógeno muy potente para la que han establecido dosis letales en animales como patos (LD₅₀ 0,34-0,56 mg/kg), trucha arcoiris (LD₅₀ 0,81 mg/kg), monos (LD 3 mg/kg) y ratas (LD 7 mg/kg). En humanos, los síntomas de toxicidad incluyen ictericia, ascitis, hipertensión portal, sangrado gastrointestinal y posible encefalopatía y degradación grasa de las vísceras (Corn, 2012).

5.3.2 Fumonisin

El análisis con el kit de ELISA para fumonisin indicó que cinco muestras de Talkan eran positivas a la presencia de las fumonisin B1, B2 o B3. Sin embargo, el análisis de HPLC-MS/MS de estas cinco muestras dieron resultados negativos. No se cree que la ausencia de muestras positivas sea debida a la inhabilidad del método de HPLC-MS/MS para detectar fumonisin B3 ya que la abundancia de fumonisin B3 en el maíz es baja en comparación con la fumonisin B1 y B2 (Scudamore, 2000). Se puede decir por tanto que la ausencia de fumonisin B1 y B2 garantiza la ausencia de fumonisin B3. Además hay que

resaltar que los métodos de cribado, especialmente aquellos basados en ELISA pueden dar lugar a falsos positivos.

Se han reportado contenidos de fumonisinas mundialmente en los alimentos. Una revisión de la presencia de esta micotoxina en cereales y productos a base de cereales en los seis continentes confirma la presencia de fumonisina B1 en alimentos procedentes de países asiáticos (Soriano y Dragacci, 2004). Esta micotoxina se ha detectado en China, Corea, Irán, Taiwán, Nepal, Filipinas e India, siendo la concentración máxima de 25 µg/kg la cual fue medida en una muestra china de maíz. El máximo detectado en Rusia fue de 5130 µg/kg, medido en un estudio que se llevó a cabo en 1016 muestras de grano alimenticio (trigo, cebada, centeno, avena y maíz) estando la fumonisina presente en el 78% de las muestras. Teniendo en cuenta la presencia común de fumonisina en todo el mundo, la ausencia de fumonisina en las muestras de Talkan podría deberse al hecho de que los granos se tuestan a 250°C antes de molerse y que la concentración de fumonisina disminuye más del 90% con temperaturas por encima de 175°C (Bullerman y col., 2002).

5.3.3 Zearalenona

La zearalenona se ha encontrado en todo el mundo en una gama de cereales como trigo, cebada, maíz, arroz y avena. Esta micotoxina ha sido investigada en muestras de Talkan porque su presencia ha sido reportada en alimentos procesados, particularmente en aquellos producidos a partir de cereales (Lawley y col., 2012).

De las 50 muestras analizadas por ELISA, seis fueron positivas para la presencia de zearalenona. La presencia de zearalenona se confirmó adicionalmente mediante HPLC-

MS/MS en estas seis muestras y en otras cinco. Las concentraciones obtenidas por el método confirmatorio estaban entre 1,3 y 654 $\mu\text{g/kg}$. La diferencia entre la LDD del kit de ELISA (12,5 $\mu\text{g/kg}$) y el método de HPLC-MS/MS (0,50 $\mu\text{g/kg}$) explica por qué sólo seis muestras fueron positivas por ELISA, ya que las otras cinco muestras tenían una concentración por debajo de la LDD del ELISA (1,3-10,6 $\mu\text{g/kg}$). La zearalenona estaba presente en las muestras de Talkan entre seis y 33 veces por encima de la LM según la legislación de la UE (20 $\mu\text{g/kg}$) (Tabla 5.1). De nuevo, como la fumonisina, las concentraciones de zearalenona detectadas en las muestras de Talkan estaban por debajo del límite del Reglamento Técnico de la Unión Aduanera Rusia- Kazajistán-Bielorrusia para el trigo, la cebada y el cereal crudo (1000 $\mu\text{g/kg}$) (TR CU 015/2011).

La producción de zearalenona por *Fusarium* spp. se favorece en climas húmedos y especialmente en clima fresco. Se ha encontrado una correlación positiva entre *Fusarium* spp. y el contenido de humedad de los granos. En 1993, en Kazajistán y Uzbekistán, se observó una mayor incidencia de zearalenona en las semillas de trigo, centeno, arroz, maíz y girasol recolectadas en las zonas húmedas del sur de Rusia (L'vova y col., 1993). Ryu y col. (2003) informaron que la concentración de zearalenona estaba influenciada por el pH y la temperatura (100-225°C). Su estabilidad fue investigada por los mismos autores usando un extrusor de tornillo y una mayor reducción de zearalenona se observó a 120°C y 140°C que a 160°C (Ryu y col., 1999). Sin embargo, los resultados obtenidos con muestras de Talkan indicaron que tostar el grano a 250°C no garantiza la ausencia de zearalenona. De hecho, esta micotoxina fue la más frecuentemente detectada en las muestras de Talkan, presente en el 20% de las muestras.

Yazar y Omurtag (2008), publicaron un estudio el cual incluye datos de Italia, Argentina, Marruecos, Francia, Croacia, Alemania, Dinamarca, Lituania, Finlandia, Turquía y China realizando una revisión completa de la presencia de zearalenona en cereales en todo el mundo. El rango fue de no detectado a 2564 µg/kg, sin embargo, la revisión solo incluye datos de China como único país colindante a Kazajistán. El contenido medio de zearalenona de 11,09 µg/kg (Yazar y Omurtag, 2008). En otro estudio, realizado en China, el 6% de las muestras de maíz fueron positivas para esta micotoxina, con concentraciones que oscilaban entre 5 y 500 µg/kg (Pei y col., 2013). No se encontraron datos que coexistan con la presencia de zearalenona en las muestras de Talkan. Sin embargo, la presencia de *Fusarium* se observó en muestras de grano de trigo utilizadas para otro experimento en nuestro laboratorio, lo cual puede indicar el alto incidente de *Fusarium* en trigo de Kazajistán. Sin embargo, estos datos no pueden compararse con ningún hallazgo anterior, ya que los datos sobre la presencia de zearalenona y *Fusarium* se han encontrado en la literatura internacional.

5.3.4 Deoxinivalenol

Se encontraron tres muestras de Talkan positivas para deoxinivalenol por el método de ELISA. Por el contrario, el análisis por HPLC-MS/MS de las 18 muestras de Talkan reveló que dicha micotoxina estaba presente ocho. Esta discrepancia se atribuye a los LDDs ya que el método HPLC-MS/MS tiene un LDD de 0,60 µg/kg y el método de ELISA de 1.5 µg/kg. La presencia de deoxinilvalenol se confirmó en un 16% de las muestras de Talkan y en un intervalo de concentración entre 1,9 y 417 µg/kg. Hay que resaltar que tres de la muestra tenían concentraciones superiores a 200 µg/kg que es el LM para alimentos elaborados a base de cereales establecido por la UE (Reglamento 1126/2007). Por el contrario, cuando se

consideró el LM establecido en la legislación Rusa-Kazaja-Bielorrusa para cultivos de cereales (trigo y cebada) y sus productos, los valores medidos en las muestras de Talkan se encontraban dentro de los límites (700 y 1000 $\mu\text{g/kg}$, TR CU 015/2011). Al comparar la incidencia de esta micotoxina con los datos reportados en el área mediterránea, la presencia de deoxinilvalenol en muestras de Talkan fue mayor. P. ej. el desoxinivalenol se detectó en el 5% de los productos a base de cereales y en los cereales recogidos en Marruecos, Italia, España y Túnez ($n = 79$) con un intervalo de concentración entre 63,2 y 296 $\mu\text{g/kg}$ (Serrano y col., 2012). Sin embargo, una estudio realizado con 2166 muestras de cereales cosechadas en varias regiones de Rusia reveló la presencia de desoxinivalenol en el 69% de las muestras (Tutelyan, 2004) siendo la región de Krasnodar la más endémica de *Fusarium*. Estos datos publicados por Tutelyan (2004) pueden explicar los altos niveles de desoxinivalenol y zearalenona en las muestras de Talkan de Kazajistán, ya que estas dos áreas parecen tener condiciones climáticas similares.

El deoxinivalenol es el tricoteceno más comúnmente detectado, la mayoría de las especies animales evaluadas son susceptibles a esta micotoxina siendo responsable de causar náuseas temporales agudas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y dolores de cabeza, una revisión completa de su toxicidad ha sido realizada por Sobrova y col. (2010). En la India en 1987 hubo más de 50.000 personas intoxicadas por consumir pan contaminado con esta micotoxina, los síntomas que presentaban eran vómitos y mareos, las concentraciones que se midieron estaban entre 340 y 8400 $\mu\text{g/kg}$ (Bhat y col., 1989).

5.3.5 Ocratoxina A

Doce de las 50 muestras de Talkan analizadas mediante el kit de ELISA resultaron ser positivas a la presencia de ocratoxina A. El método de HPLC-MS/MS confirmó la presencia de ocratoxina A en nueve muestras. No se encontró ninguna razón aparente para explicar la diferencia entre los resultados de ELISA y HPLC-MS/MS. La concentración de ocratoxina A osciló entre 1,4 y 22,4 µg/kg. Después de la zearalenona, la ocratoxina A fue la micotoxina más frecuentemente detectada presente en el 18% de las muestras de Talkan. Es notable que la ocratoxina A medida en estas muestras estuviera por encima de 0,50 µg/kg, que es el LM establecido por la UE (Reglamento 1126/2007). Además, la concentración máxima de ocratoxina A medida en las muestras de Talkan fue 45 veces superior al LM permitido en Europa y superiores al LM establecidos por el Reglamento Técnico de la Unión Aduanera Rusia- Kazajistán -Bielorrusia (5 µg/kg).

5.3.6 Riesgo para la salud derivados del consumo de Talkan contaminado

La presencia de micotoxinas se analizó un total de 50 muestras de Talkan utilizando métodos de cribado diferentes. Basándose en la legislación de la UE, la presencia de micotoxinas debe confirmarse mediante un método de HPLC-MS/MS. Por lo tanto, para evaluar el riesgo para la salud como consecuencia del consumo de Talkan contaminado sólo se han tenido en cuenta los datos obtenidos usando el método HPLC-MS/MS.

Dieciocho de las 50 muestras fueron re-analizadas por HPLC-MS/MS y 14 (28%) muestras resultaron positivas a la presencia de al menos una micotoxina. Sobre la base de los LM establecidos por la legislación Rusa-Kaza-Bielorrusa (Tabla 5.1), el consumo de nueve

muestras (18%) planteaba un riesgo para la población kazaja. Sin embargo, cuando se consideran los LM de la UE (Tabla 5.1), 12 muestras (24%) no cumplían y no debían ser consumidas por la población humana debido a su riesgo potencial de toxicidad. Además, siete muestras contenían tres micotoxinas, tres con dos y cuatro con una sola micotoxina.

Tabla 5.3. TDI y PDI para adultos y niños calculados a partir de la concentración media y máxima de micotoxinas medidas en muestras de Talkan.

	Concentración media				Concentración máxima			
	Adultos		Niños		Adults		Children	
	PDI	% TDI	PDI	% TDI	PDI	% TDI	PDI	% TDI
Aflatoxina B1 TDI (0,015 ¹)	0,004	29	0,006	42	0,004	28	0,006	40
Ochratoxina A TDI (0,12 ²)	0,010	8	0,015	12	0,032	27	0,047	39
Zearalenona TDI (0,25 ³)	0,287	115	0,419	168	0,934	374	1,363	545
Deoxynivalenol TDI (1 ⁴)	0,179	18	0,260	26	0,596	60	0,869	87

¹Kuiper-Goodman y Scott (1989); ²EFSA (2010); ³EFSA (2014); ⁴EFSA (2013)

La ingesta diaria probable (PDI) se calculó según lo descrito por Jager y col. (2013) y se comparó con la ingesta diaria tolerable (TDI) reportada para las micotoxinas detectadas en las muestras de Talkan. Para calcular el PDI se utilizó un valor medio de 70 kg de peso corporal y 0,1 kg de consumo de Talkan, mientras que para niños se usó 24 kg de peso corporal y 0,05 kg de consumo de Talkan. La Tabla 5.3 resume los valores de PDI y el

porcentaje de TDI para adultos y niños de Kazajistán (Kuiper-Goodman y Scott, 1989, EFSA, 2010, EFSA 2013, EFSA, 2014). Los valores obtenidos para PDI para adultos fueron 18 o superiores y para niños 27 o superiores para aflatoxina B1, zearalenona y desoxinivaleno, teniendo en cuenta que las micotoxinas se acumulan en el hígado y el riñón, estos resultados indican un alto riesgo para la población kazaja. La zearalenona fue la micotoxinas que más riesgo presentaba para la población para la población kazaja ya que los PDI calculados representaban más del 100% del TDI (Tabla 5.3).

5.4. Conclusiones

En este trabajo de investigación se observó la presencia de micotoxinas en muestras de Talkan, un alimento a base de grano de cereal que se prepara usando una temperatura alta y que es un plato tradicional para la población turca. La presencia de cuatro micotoxinas fue confirmada por HPLC-MS/MS en el 28% de las muestras. Cabe destacar que las concentraciones de las micotoxinas superaron los LM establecidos por la legislación europea para todas las micotoxinas evaluadas y el LM establecido por la legislación de la Unión Rusia- Kazajistán -Bielorrusia para la ochratoxina A. La PDI para adultos y niños fue superior al 20% para la aflatoxina B1 y el desoxinivalenol, y superior al 100% para la zearalenona indicando un alto riesgo para la población kazaja. Cabe destacar que un pequeño número de artículos científicos informan de la presencia de micotoxinas en cereales procedentes de Kazajistán y por lo tanto este es el primero que publica datos sobre la presencia de micotoxinas en alimentos a base de cereales procedentes de Kazajistán.

5.5. Referencias

1126/2007/EC COMMISSION REGULATION (EC) No 1126/2007 of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain

contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins in maize and maize products. O J L 255: 14-17

Bayman, P., Baker, J.L., Doster, M.A., Michailides, T.J., Mahoney, N.E. (2002). Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Applied Environmental Microbiology*, 68, 2326-2329.

Beardall, J.M., Miller, J.D., Trenholm, H.L. (1994). Diseases in humans with mycotoxins as possible causes. *Mycotoxins in grain: compounds other than aflatoxin*. 487-539.

Bennett, J.W., Klich, M. (2003). *Mycotoxins*. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 497-516

Betina, V. (1984). *Mycotoxins*. Production, isolation, separation and purification.

Bhat, R.V., Beedu, S.R., Ramakrishna, Y., Munshi, K.L. (1989). Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat production in Kashmir Valley, India. *Lancet*, 1, 35-37.

Bullerman, L.B., Ryu, D., Jackson, L.S. (2002). Stability of fumonisins in food processing. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 504, 195-204.

Caldas, E.D., Silva, S.C., Oliveira, J.N. (2002). Aflatoxins and ochratoxin A in food and the risks to human health. *Revista de Saúde Pública*, 36, 319-323.

Corn, M. (2012). *Handbook of hazardous materials*. Academic Press

D'mello, J.P.F., Placinta, C.M., Macdonald, A.M.C. (1999). Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology*, 80, 183-205.

Dutton, M.F. (1996). Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: their nature and their effects. *Pharmacology and therapeutics* 70, 137-161.

EMAN (2003). European Mycotoxin Awareness Network co-ordinated by Leatherhead Food Research Association (UK). <http://www.lfra.co.uk/eman/index.htm>.(D.L.

Hawksworth. (Ed.), Identification and Characterization of Pest Organisms, CAB International, Wallingford (1994)

FAO (2004). Food and Agriculture Organization worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. FAO Food and Nutrition Paper 81. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy

Guan, S., Gong, M., Yin, Y.L., Huang, R.L., Ruan. Z., Zhou, T., Xie, M.Y. (2011). Occurrence of mycotoxins in feeds and feed ingredients in China. Journal of Food, Agriculture and Environment, 9, 163-167.

IARC (1993), International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. 56: 397–444, Lyon, France

IARC (2012), International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: chemical agents and related occupations. International Agency for Research on Cancer, 100F, 225–248 Lyon,

Jager, A.V., Tedesco, M.P., Souto, P.C.M.C., Oliveira C.A.F. (2013). Assessment of aflatoxin intake in São Paulo. Brazil. Food Control, 33, 87-92.

Kellerman, T.S., Marasas, W.F, Thiel, P.G., Gelderblom, W.C., Cawood, M., Coetzer, J.A. (1990). Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B1. The Onderstepoort journal of veterinary research, 57, 269-275

Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M. (1989). Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. Biomedical and Environmental Sciences, 2, 179-248

Lawley, R., Curtis, L., Davis, J. (2012). The food safety hazard guidebook. Royal Society of Chemistry.

Lim, C.W., Yoshinari, T., Layne, J., Chan, S.H. (2015). Multi-mycotoxin screening reveals separate occurrence of aflatoxins and ochratoxin a in Asian rice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63, 3104-3113.

L'vova, L.S., Orlova, N., Bystriakova, Z.K., Omel'Chenko, M.D., Remele, V.V. (1992). Propagation of toxigenic fungi and mycotoxins in various grains. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia*, 29, 70-79.

Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237.

Nesbitt, B.F., O'Kelly, J., Sargeant, K., Sheridan, A. (1962). Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. *Nature*, London, 195, 1062-1063.

Pei, S.C., Lee, W.J., Zhang, G.P., Hu, X.F., Eremin, S.A., Zhang, L.J. (2013). Development of anti-zearalenone monoclonal antibody and detection of zearalenone in corn products from China by ELISA. *Food control*, 31, 65-70.

Plestina, R. (1996). Nephrotoxicity of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*, 13, 49-50.

Raisuddin, S., Singh, K.P., Zaidi, S.I.A., Paul, B.N., Ray, P.K. (1993). Immunosuppressive effects of aflatoxin in growing rats. *Mycopathologia*, 124, 189-194.

Remele, V.V. (2011) WORKSHOP. Mycotoxin contamination of grain staple crops in Kazakhstan. Kazakh Research Institute for the Processing of Agricultural Products, Astana, Republic of Kazakhstan MycoRed RUSSIA. INTERNATIONAL WORKSHOP. Reduction of Mycotoxins in Production Chains of EU and Russia: Modern Investigations and Practical Features.

Ryu, D., Hanna, M.A., Bullerman, L.B. (1999). Stability of zearalenone during extrusion of corn grits. *Journal of Food Protection*, 62, 1482-1484

Ryu, D., Hanna, M.A., Eskridge, K.M., Bullerman, L.B. (2003). Heat stability of zearalenone in an aqueous buffered model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1746-1748.

Schlatter, C.H., Studer-Rohr, J., Rasonyi, T.H. (1996). Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Addit Contam (United Kingdom)*.

Scientific Opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed 1 (2014). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, EFSA Journal 12(12):3916

Scientific Opinion, Statement on recent scientific information on the toxicity of Ochratoxin A, EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (2010). EFSA Journal 8(6):1626.

SCIENTIFIC REPORT OF EFSA. Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure 1 (2013). European Food Safety Authority, EFSA Journal (10):3379, 1-56

Scudamore, K.A., Patel, S. (2000). Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom. Food Additives and Contaminants, 17, 407-416.

Serrano, A.B., Font, G., Ruiz, M.J., Ferrer, E. (2012). Co-occurrence and risk assessment of mycotoxins in food and diet from Mediterranean area. Food chemistry, 135, 423-429

Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and its toxicity. Interdisciplinary toxicology 3, 94-99.

Soriano, J.M., Dragacci, S. (2004). Occurrence of fumonisins in foods. Food Research International, 37, 985-1000.

Taguchi, S., Fukushima, S., Sumimoto, T., Yoshida, S., Nishimune, T. (1995). Aflatoxins in foods collected in Osaka, Japan, from 1988 to 1992. Journal of AOAC International, 78, 325-327.

Tarasovskaya, N.E., Dzhakova, G.E. (2012) Plants of North Kazakhstan in sports nutrition and recovery malnourished patients, Biological Sciences of Kazakhstan 2, 137-150 (in Russian)

TR CU 015/2011 The Technical Regulation of the Russia-Kazakhstan-Belarus Customs Union (CU) on the Safety of Grain (TR CU 015/2011)

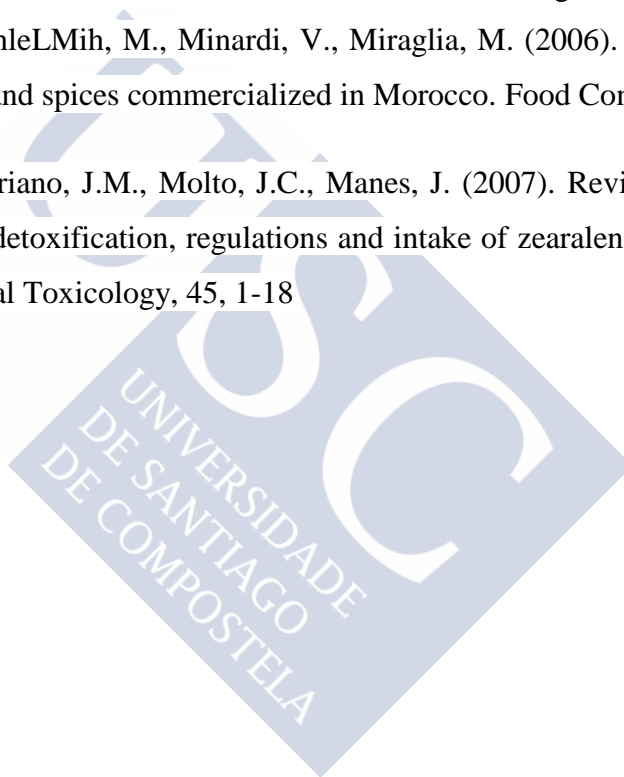
Tutelyan, V.A. (2004). Deoxynivalenol in cereals in Russia. *Toxicology Letters* 153, 173-179.

Tutelyan, V.A., Zakharova, L.P., Sedova, I.B., Perederyaev, O.I., Aristarkhova, T.V., Eller, K.I. (2013). Fusariotoxins in Russian Federation 2005–2010 grain harvests. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 6, 139-145.

Yazar, S., Omurtag, G.Z. (2008). Fumonisin, trichothecenes and zearalenone in cereals. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 2062–2090.

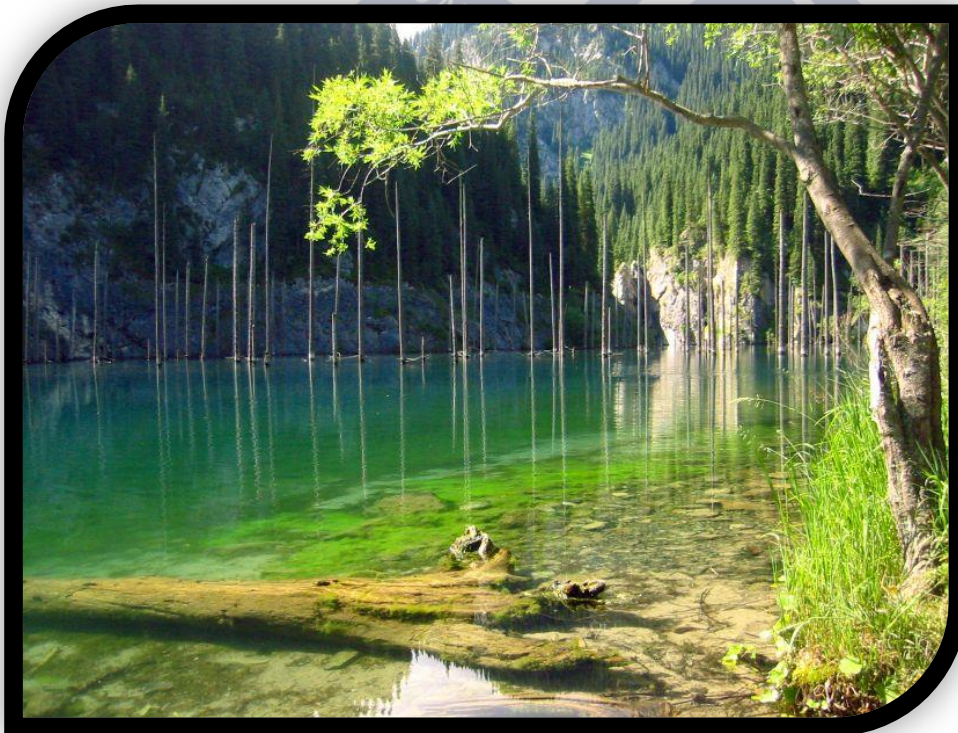
Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., Santis, De., Faid. M., BenleLMih, M., Minardi, V., Miraglia, M. (2006). Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control* 17, 868-874.

Zinedine, A., Soriano, J.M., Molto, J.C., Manes, J. (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. *Food Chemical Toxicology*, 45, 1-18





Capítulo 6: Conclusiones





CONCLUSIONES

La discusión de los resultados obtenidos del análisis de las muestras de arroz, trigo y Talkan procedentes de Kazajistán han dado lugar a las conclusiones que se detallan a continuación:

1. Las muestras de arroz no contenían concentraciones de elementos tóxicos tales como Cd, Hg y Pb por encima de los límites máximos establecidos por las diferentes legislaciones europeas y kazajas. Sin embargo, el 90% del As detectado en el arroz integral era inorgánico ($n = 11$), siendo la concentración superior al límite máximo y el As (III) la forma predominante. Los datos también reflejaron la influencia de la contaminación ambiental en diferentes zonas de la provincia de Kyzylorda obteniendo mayor concentración de Cd, Hg, Co, Cu, Mn, Cr y V en muestras de arroz recogidas en zona centro.

2. Las concentraciones de los elementos tóxicos medidos en las muestras de trigo no excedieron, en general, los límites máximos establecidos en las diferentes legislaciones. Sin embargo, valores del riesgo potencial no cancerígeno para Cu, Zn, Co y Mn fueron superiores a uno y los valores del índice de peligro calculados para adultos y niños kazajos también fueron superiores a uno. Estos resultados revelan que existe un riesgo potencial para la salud derivado del consumo continuado de trigo kazajo.

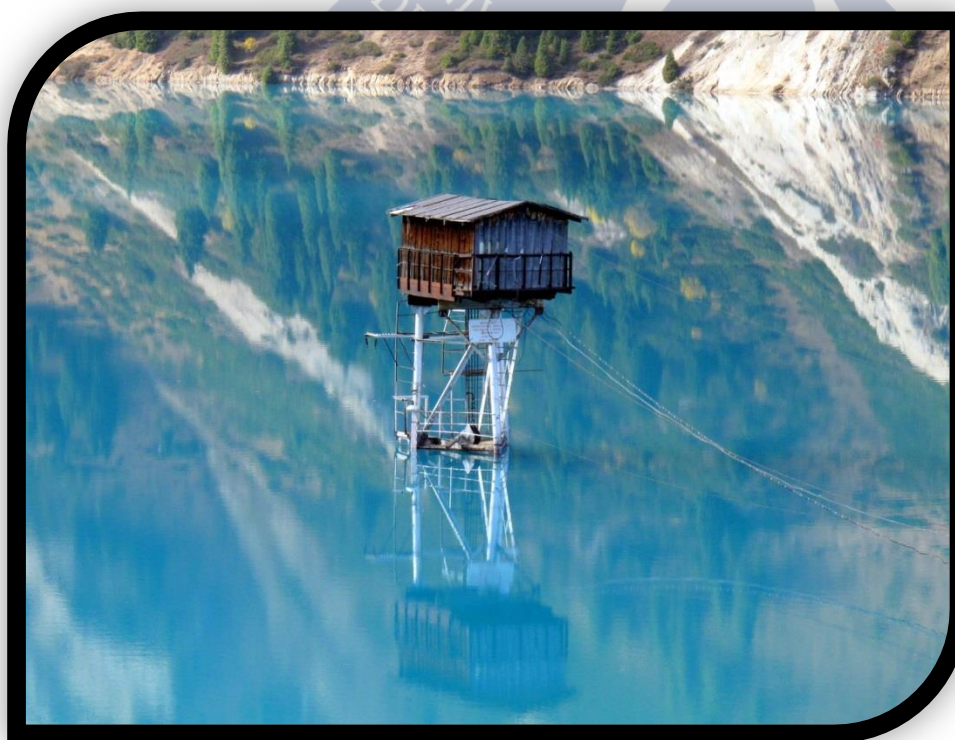
3. El análisis discriminante de las muestras de trigo recogidas en diferentes zonas de Kazajistán permitió clasificar más del 80% de las muestras correctamente, en especial las del Norte y Sur ya que sus concentraciones medias y máximas de As, Cd, Pb, Cr, Co, Mn, Zn, Se y U fueron las más altas de las zonas muestreadas. Estos datos mostraron una clara correspondencia entre las concentraciones de los diferentes elementos en el trigo y las actividades antropogénicas del país.

4. El método de HPLC-MS/MS confirmó la presencia de cuatro micotoxinas (aflatoxina B1, zearalenona, deoxinivalenol y ocratoxina A) en el 28% de las muestras de Talkan analizadas. Las concentraciones de las micotoxinas superaron los límites máximos establecidos por la legislación europea en todos los casos. Además. Los valores de la ingesta diaria probable calculados para adultos y niños kazajos fueron el 20% de las ingestas diarias

tolerables para la aflatoxina B1 y el desoxinivalenol y superiores al 100% de la ingesta diaria tolerable para la zearalenona, todo ello indica un riesgo alto para la población kazaja.



ANEXO





A study on toxic and essential elements in rice from the Republic of Kazakhstan: comparing the level of contamination in rice from the European Community

D. Tattibayeva · C. Nebot · J. M. Miranda ·
A. Cepeda · E. Mateyev · M. Erkebaev ·
C. M. Franco

Received: 8 November 2013 / Accepted: 25 February 2015
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2015

Abstract Selected toxic elements (total As, Cd, Cr, Hg, Pb, Sr, U and V) and essential elements (Co, Cu, Fe, Mn and Zn) were analyzed using an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in unpolished and milled rice collected from Kazakhstan and milled rice from Spain and Portugal to evaluate the potential health risk to the population. Arsenic species (arsenite, arsenate, arsenobetaine, dimethylarsinate and monomethylarsonate) were analyzed using HPLC-IC-MS. From 146 samples analyzed, none of them exceeded the maximum limit set by the European Legislation for Cd or Pb or values recommended by the Codex Alimentarius. Concentrations of Sr, U and V were below LOD and those of Hg, Pb, Co and Cr between <LOD and 0.54 mg/kg (highest concentration of Cr) in milled rice. Portuguese rice samples contained the highest mean concentration of As, Hg, Pb, Co, Cr, Cu, Mn and Zn. The highest mean

of arsenobetaine (0.001 mg/kg), dimethylarsinate (0.27 mg/kg) and monomethylarsonate (0.02 mg/kg) was found in Spanish rice and that of arsenite (0.30 mg/kg) in Kazakh rice. Inorganic As in samples from Kazakhstan was above the ML (0.2 mg/kg) proposed by FAO/WHO, but in seven samples from Spain and in four from Portugal were above the limit. The estimated weekly intake of total or inorganic As(III, V), Cd, Hg and Pb for rice consumption by Kazakh, Spanish and Portuguese adults and children was lower than the provisional tolerable weekly intake established by Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and the European Food Safety Authority.

Keywords Rice · Toxic elements · Essential elements · Weekly intake · Kyzylorda Province · Kazakhstan

D. Tattibayeva · C. Nebot · J. M. Miranda ·
A. Cepeda · C. M. Franco (✉)
Laboratorio de Higiene Inspección y Control de
Alimentos, Dpto. Química Analítica, Nutrición y
Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de
Santiago de Compostela, Pabellón 4 planta baja, Campus
Universitario s/n, 27002 Lugo, Spain
e-mail: carlos.franco@usc.es

E. Mateyev · M. Erkebaev
Department of "Mechanization and Automation of
Manufacturing Processes", Almaty Technological
University, Tole bi street, 100, 050012 Almaty,
Kazakhstan

Introduction

Rice is the dominant staple food for over half of the world's population, especially in developing Asian countries, where it contributes to over 70 % of the energy provided by their daily food intake (Qian et al. 2010). According to market research on cereals in the Republic of Kazakhstan, 53 % of the total consumption of cereals consists of rice and accounted for several cereals, except for wheat consumption, during

A study on toxic and essential elements in wheat grain from the Republic of Kazakhstan

Damira Tattibayeva¹ · Carolina Nebot¹ · Jose M. Miranda¹ · Altynai B. Abuova² · Torebek A. Baibatyrrov² · Maigul Z. Kizatova³ · Alberto Cepeda¹ · Carlos M. Franco¹

Received: 4 May 2015 / Accepted: 3 November 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract Little information is currently available about the content of different elements in wheat samples from the Republic of Kazakhstan. The concentrations of toxic (As, Cd, Cr, Hg, Pb, and U) and essential (Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, and Zn) elements in 117 sampled wheat grains from the Republic of Kazakhstan were measured. The results indicated that the mean and maximum concentrations of most investigated elements (As, Cd, Co, Cr, Mn, Se, Pb, and U) were higher in samples collected from southern Kazakhstan. The mean and maximum concentrations of toxic elements such as As, Cd, Hg, and Pb did not exceed levels specified by European, FAO, or Kazakh legislation, although the hazard quotient (HQ) values for Co, Cu, Mn, and Zn were higher than 1 and the hazard index (HI) was higher than 1 for samples collected from all areas of Kazakhstan. This indicates that there should be concern about the potential hazards of the combination of toxic elements in Kazakh wheat.

Responsible editor: Philippe Garrigues

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11356-015-5728-4) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Carolina Nebot
carolina.nebot@usc.es

¹ Laboratorio de Higiene, Inspección y Control de Alimentos, Dpto de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Pabellón n 4, Planta Baja, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, 27002 Lugo, Spain

² Department of Food processing technology, Zhangir Khan West Kazakhstan Agrarian Technical University, Zhangir Khan Street, 51, Uralsk 090009, Republic of Kazakhstan

³ Department of Technology of Bakeries and Processing Industries, Almaty Technological University, Tole by Street, 100, Almaty 050012, Republic of Kazakhstan

Keywords Wheat · Essential elements · Toxic elements · Contamination · Kazakhstan

Introduction

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is the highest ranked cereal both in cultivated surface area and in production volume among the grain crops of the world. It is used to feed about one third of the world population (Abbas et al. 2011). According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations, Kazakhs consumed 203.9 g/capita/day of wheat in the year 2000 (FAO 2000), these values are higher than those in Australia, China, Ethiopia, and India (186, 164, 103, and 171 g/capita/day) and lower than those in Argentina, Morocco, and Turkey (320, 520, and 476 g/capita/day) during 2003–2005 (Dixon et al. 2009).

Kazakh wheat is characterized by its quality as it has high protein (14–16 %) and gluten (21.40 %) content (Abugalieva and Peña 2010), explaining why Kazakhstan is one of the six largest wheat exporters in the world. Annually, Kazakhstan exports on average 8.6 million tons of wheat, including about 2 million tons of wheat flour (ASRARFCA 2013). Kazakhstan can be divided into five major regions based on soil, climatic, and economic conditions: northern, central, western, eastern, and southern. Most of Kazakh wheat is produced in the northern region where 71 % of the total wheat is grown, 10 % is produced in the western part, 5 % is grown in the east, and 3.5 % comes from the central and southern parts. Total cereal crops occupy 76.82 % of sown area of Kazakhstan; approximately 11.8–13.5 million hectares is dedicated to wheat cultivation (ASRARFCA 2013).

Another important aspect of the Kazakhstan economy is the presence of extensive mineral-producing regions, with areas that contain As, Ba, Cu, Pb, Ti, Ta, Pb, and Zn (Fig. 1). It has

Mycotoxin Research

Occurrence of mycotoxins in talkan: a cereal-based food traditional for Turkic population

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	MYRE-D-17-00003	
Full Title:	Occurrence of mycotoxins in talkan: a cereal-based food traditional for Turkic population	
Article Type:	Original Article	
Corresponding Author:	Carolina Nebot Universidade de Santiago de Compostela Lugo, Lugo SPAIN	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Universidade de Santiago de Compostela	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Damira Tattibayeva, Food tecnology	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Damira Tattibayeva, Food tecnology Carolina Nebot Altynai B Abuova, Dr Maigul Z. Kizatovac, Dr Beatriz Vazquez, Dr Jose M Miranda, PhD Alberto Cepeda, Dr Carlos Franco, Dr	
Order of Authors Secondary Information:		
Funding Information:	Erasmus Mundus (2010-2347/001-001)	Ms Damira Tattibayeva
Abstract:	<p>The consumption of cereal, such as wheat, corn or barley contaminated with mycotoxins poses a serious health risk for humans and animals. Although mold growth benefits from areas with hot and humid climates, they can also proliferate in temperate zones. The present work aims to evaluate the presence of mycotoxins in, talkan, a cereal-based food commonly consumed by the Turkic population. The presence of mycotoxins was investigated in a total of 50 talkan samples obtained from Kazakhstan. After preliminary screening using various ELISA kits, mycotoxins were confirmed and quantified by an HPLC-MS/MS method. More than 28% of the samples were positive for at least one mycotoxin. The calculated probably daily intake for adults and children was 20% above the tolerable daily intake for aflatoxin B1 and deoxynivalenol, while it was above 100% for zearalenone, indicating a high risk for the Kazakh population. A total of 12 samples exhibited concentrations above the European maximum level for ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol, however, these values were within the limits established by the Russia-Kazakhstan-Belarus Customs Union.</p>	